PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

E. BÜNNING-TÜBINGEN, A. ERNST-ZÜRICH, H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. SCHUMACHER-BONN, G. TISCHLER-KIEL

HERAUSGEGEBEN VON

WILHELM RUHLAND UND OTTO RENNER

42. BAND, 4. HEFT

MIT 28 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 6. OKTOBER 1953)

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1953

Planta (Berl.)

Preis DM 17.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik.

Begründet 1925. Herausgegeben von *W. Ruhland, H. Winkler.* Berlin, Springer. Bis Band 21 als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E: Planta".

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 60.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä., von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an

Professor Dr. Otto Renner, (13b) *München 38, Botanische Staatsanstalten, Menzinger Straße 67.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Vertriebsvertretung im Ausland:

Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N.W. 1

---

42. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 4. Heft

Seite

Grube, K. H., Über den Zusammenhang von Phosphathaushalt und Photosynthese bei *Helodea densa*. Mit 3 Textabbildungen 279

Kandler, O., Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, α-Naphthylessigsäure, Natriumfluorid und Vitamin B_1 auf den Stoffwechsel in vitro kultivierter Maiswurzeln. Mit 25 Textabbildungen . 304

Halbsguth, W., und H.-W. Kohlenbach, Einige Versuche über die Wirkung von Heteroauxin auf die Symmetrieentwicklung der Brutkörperkeimlinge von *Marchantia polymorpha L.* 349

Planta, Bd. 42, S. 279—303 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

ÜBER DEN ZUSAMMENHANG VON PHOSPHATHAUSHALT UND PHOTOSYNTHESE BEI *HELODEA DENSA*.

Von

KARL HEINZ GRUBE.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. März 1953.)

I. Einleitung.

Seit durch MEYERHOF und Mitarbeiter (1938) und durch WARBURG und CHRISTIAN (1939) erkannt wurde, daß energiereiche Phosphatverbindungen (LIPMANN) als Speicher und Überträger chemischer Energie im Atmungs- und Gärungsstoffwechsel eine sehr große Rolle spielen, ist wiederholt die Ansicht geäußert worden, daß die Bildung und Ausnutzung energiereicher Phosphatverbindungen, etwa von Adenosintriphosphat (ATP), auch bei der Photosynthese eine Rolle spiele. Im einzelnen sind recht verschiedene Vorstellungen entwickelt worden (RUBEN 1943, EMERSON und Mitarbeiter 1944, KOK 1947, KANDLER 1950, WARBURG 1951, HOLZER 1951, VISHNIAC und OCHOA 1952). Sie lassen sich unter Berücksichtigung einiger Verallgemeinerungen in folgender Weise gliedern:

1. Energiereiche Phosphatverbindungen sind zur Photosynthese erforderlich. Ob sie auch im Verlauf des Photosyntheseprozesses entstehen, wird offengelassen.

2. Energiereiche Phosphatverbindungen werden im Licht während der Photosynthese gebildet. Ob sie an der Photosynthese selbst beteiligt sind, und ob ihre normale Bildung mit Hilfe von Abbauprozessen während der Belichtung zurücktritt, bleibt zunächst unberücksichtigt.

3. Die während der Photosynthese gebildeten energiereichen Phosphatverbindungen sind für einen oder mehrere Teilprozesse der CO_2-Assimilation selbst unentbehrlich. Nach der einen, älteren Meinung (RUBEN, EMERSON und Mitarbeiter), übertragen sie die gesamte oder auch nur einen Teil der bei dem Primärakt der Wasserspaltung gewonnenen Energie an die Orte der CO_2-Bindung und -Reduktion. Diese Ansicht wurde aus energetischen Gründen von RABINOWITCH 1945 abgelehnt. Nach anderer Ansicht übertragen sie nur die bei der CO_2-Bindung, -Reduktion und Umwandlung der Intermediärprodukte zu Kohlenhydraten erforderliche Phosphorylierungsenergie, während der größere Teil der benötigten Energie durch eine allgemeine „reduction

power" (CALVIN, BASSHAM, BENSON und Mitarbeiter 1951) oder durch eine spezifische Übertragungsreaktion (GAFFRON und FAGER 1951) an die Orte der CO_2-Reduktion gebracht werden soll.

4. In Hinsicht auf den Zeitpunkt und den Ort der Entstehung energiereicher Phosphate im Verlauf der Photosynthese werden ebenfalls mehrere Möglichkeiten diskutiert. Sie werden entweder 1. unmittelbar nach der Lichtabsorption, z. B. durch Substratphosphorylierung, als Primärprodukte der Photoreaktion in Verbindung oder neben dem bei der Wasserspaltung entstandenen an H-Acceptoren gebundenen Wasserstoff gebildet, oder entstehen 2. nach Rekombination eines Teils des bei der primären Wasserspaltung entwickelten Wasserstoffs mit Sauerstoff auf dem Weg über die sog. Atmungskettenphosphorylierung (LYNEN und HOLZER, HOLZER). Schließlich besteht 3. die Möglichkeit, daß die bei der Photosynthese benötigten energiereichen Phosphatverbindungen erst durch den Abbau eines Teils der durch Photosynthese bereits gebildeten Kohlenhydrate, also erst nach der CO_2-Bindung und anschließenden Reduktion, entstehen.

Zum Zwecke der Klärung des Zusammenhanges zwischen Photosynthese und Phosphathaushalt wurden bereits eine Reihe von Untersuchungen vorgenommen, die aber bisher zum Teil zu recht widerspruchsvollen Ergebnissen führten und keineswegs in der Lage sind, die obengenannten Vorstellungen im einzelnen zu begründen. Abgesehen von den ersten experimentellen Hinweisen durch VOGLER und EMERSON (vgl. auch die Diskussion dieser Arbeiten bei RABINOWITCH bzw. PIRSON) interessieren hier zunächst die Versuche von ARONOFF und CALVIN (1948), die sie mit radioaktivem Phosphat durchführten. Sie fanden weder bei Algen und grünen Blättern noch bei isolierten Chloroplastenfragmenten eine erhöhte Bildung organischer Phosphatverbindungen bei Belichtung im Vergleich zu Dunkelkontrollen.

Die weiteren Untersuchungen gingen besonders von zwei verschiedenen aus Pflanzen gewonnenen Phosphatfraktionen aus. Zunächst wurde die in Trichloressigsäure (TES) unlösliche Phosphatfraktion näher auf ihre Veränderungen bei Belichtung und Verdunkelung untersucht. Dabei wurde teilweise die Ansicht vertreten, daß der größte Teil des energiereichen Phosphats im pflanzlichen Gewebe in der gleichen Weise an Eiweiß gebunden ist, wie das energi reiche Pi.osphat an Purin und Pentose in ATP (vgl. WILDMAN, CAMPELL und BONNER sowie BONNER). Eine derartige Phosphateiweißverbindung ist aber in TES nicht löslich. Es ergab sich (GEST und KAMEN 1948) mit ^{32}P bei mehrstündiger Versuchsdauer eine im Licht erhöhte Gesamtaufnahme und eine erhöhte Aufnahme von ^{32}P in die TES unlösliche Fraktion. Auch die von WASSINK, WINTERMANS und TJIA (1951a, b) sowie WINTERMANS und TJIA (1952) bei Gegenwart und Fehlen von CO_2, sowie bei Glucosezusatz vorgenommenen Versuche einer mehrstündigen Einlagerung von nicht radioaktivem Phosphat bei *Chlorella* in Licht und Dunkelheit bezogen sich besonders auf diese TES unlösliche Phosphatfraktion. Der leicht hydrolysierbare Anteil dieser Fraktion war bei Belichtung in CO_2-freier Lösung größer als in CO_2-haltiger. Weiterhin wurden Unterschiede des im TES-Extrakt bestimmbaren anorganischen Orthophosphats im Licht und im Dunkeln untersucht, um aus Veränderungen des anorganischen Orthophosphatspiegels Hinweise auf eine erhöhte oder verminderte Phosphataufnahme in organische Verbindungen zu entnehmen.

Vor allem stellte KANDLER (1950) bei *Chlorella* in den ersten 30 sec nach Beginn der Belichtung eine Verminderung des anorganischen Orthophosphats um 20% und in den ersten 90 sec nach Verdunklung eine Vermehrung um 30% fest. Die Veränderung während der stationären Licht- und Dunkelzustände erwiesen sich als geringer. HOLZER (1951) bestätigte diese Befunde und entwickelte auf Grund der Ergebnisse von Hemmversuchen der Photosynthese mit 2,4-Dinitrophenol, das die Atmungskettenphosphorylierung besonders nach Feststellungen von LOOMIS und LIPMANN (1949) entkoppeln soll und das sich ebenfalls bei der Photosynthese als Hemmstoff erwies (GAFFRON 1942), die bereits erwähnten theoretischen Vorstellungen einer Beteiligung von Atmungskettenphosphorylierungen im Verlauf der Photosynthese.

KANDLER und HOLZER beschränkten sich also im wesentlichen auf die Bestimmung der Veränderungen des anorganischen Orthophosphats im TES-Extrakt von *Chlorella*. HOLZER untersuchte zwar auch noch die Menge des in 7 min durch 1 n HCl bei 100° C hydrolysierten labilen organischen Phosphats, in der Hoffnung, damit auch Veränderungen des etwaigen ATP-Gehaltes wenigstens indirekt zu ermitteln, konnte aber zwischen hell und dunkel keine erfaßbaren Unterschiede feststellen.

Diese Übersicht der Literatur zeigt, daß entweder überhaupt keine Unterschiede im Phosphathaushalt bei Belichtung und Verdunklung festgestellt wurden, oder aber gefundene Unterschiede besonders die in TES unlösliche Phosphatfraktion bzw. den anorganischen Orthophosphatspiegel betreffen. Nimmt man an, daß bei der Photosynthese die Bildung von energiereichem Phosphat (etwa ATP) eine Rolle spielt oder daß wenigstens eine verstärkte Einlagerung von Phosphat in organische Verbindungen bei Belichtung stattfindet, so müßte sich ein solcher Nachweis besonders mit Hilfe der in TES löslichen organischen Phosphatfraktion durchführen lassen, da sich die bisher bekannten bei der Photosynthese gebildeten Verbindungen und auch ATP besonders in dieser Fraktion finden müßten. Außerdem sollten alle Faktoren, durch die sich die Photosynthese beeinflussen läßt, auch die Phosphataufnahme in die genannte Fraktion ändern.

Zur weiteren Klärung dieser Zusammenhänge (vgl. auch SIMONIS und GRUBE 1952) erschien es dabei wünschenswert, die Untersuchungen mit Hilfe von radioaktivem Phosphor durchzuführen, weil die „Indikatormethode" eine besonders schnelle Beobachtung etwa vorhandener unterschiedlicher Aufnahme und Verteilung des ^{32}P bei der Photosynthese im Vergleich zu Dunkelkontrollen gestattet. Um es möglichst nur zur Bildung primärer Photosyntheseprodukte kommen zu lassen, da sich sonst sekundäre Phosphorylierungs- bzw. Dephosphorylierungsvorgänge bemerkbar machen könnten, ist die Durchführung kurzfristiger Versuche anzustreben. Hierbei war die Auftrennung der Phosphatverbindungen in die oben bereits genannten Fraktionen nötig. Eine Untersuchung der Phosphateinlagerung in bestimmte einzelne Verbindungen, die natürlich von sehr großem Interesse ist, war in dieser Arbeit noch nicht vorgesehen. Hierüber sind im Institut weitere spezielle Versuche im Gange.

Aus dem Gesagten ergeben sich somit für die vorliegende Arbeit folgende Fragen: 1. Die Klärung der methodischen Voraussetzungen zur Bestimmung des aufgenommenen ^{32}P in bestimmte, aus *Helodea*-Blättern gewonnene Fraktionen. 2. Die Beeinflussung des Phosphathaushalts durch Belichtung. 3. Der Einfluß der Beleuchtungsstärke und der Lichtqualität auf die Höhe der ^{32}P-Aufnahme und 4. die Bedeutung der gebotenen Kohlendioxydmenge für die Höhe der Phosphataufnahme.

Herrn Professor Dr. W. SIMONIS danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für die mir stets zuteil gewordene Förderung. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die finanzielle Hilfe bei der Durchführung der Arbeit zu großem Dank verpflichtet. Auch die Kalichemie-Hannover sowie die Gesellschaft der Freunde der Tierärztlichen Hochschule unterstützten die Arbeit durch namhafte Geldmittel.

II. Experimenteller Teil.

1. Methodik und Vorversuche.

a) Anzucht und Vorbehandlung des Pflanzenmaterials.

Als Versuchsmaterial fanden abgeschnittene Blätter von *Helodea densa* Verwendung. Die Pflanzen wurden von der Firma W. Harster (Speyer) bezogen und in Glasaquarien (Grundfläche 20 × 23 cm, Höhe 50 cm) kultiviert. Die Aquarien standen unter einem Lichtkasten (Breite 180 cm, Länge 120 cm, Höhe 85 cm), unter dessen Decke zwei Philips-Leuchtstoffröhren T1 — 40 W — 33 weiß und acht 25-Watt-Glühlampen angebracht waren. Die Beleuchtungsstärke an der Oberfläche der Aquarien betrug etwa 1000 Lux. Die Pflanzen wurden täglich 16 Std künstlich unter Ausschluß des Tageslichtes beleuchtet. Für eine konstant gehaltene, gleichmäßige Temperatur des Wassers (22—24° C) sorgte ein Warmluftventilator. Eine ausschließliche Beleuchtung der Kulturen durch Leuchtstoffröhren des angegebenen Typs erwies sich für das Gedeihen der Pflanzen als nicht ausreichend. Erst nach zusätzlicher Beleuchtung durch Glühlampen wurde ein befriedigendes Wachstum erzielt. Die Aquarien waren mit Leitungswasser, in dem je Liter 0,2 g Kaliumnitrat gelöst waren, bis 3 cm unterhalb des oberen Randes gefüllt. Der Boden war mit einer etwa 70 mm hohen Schicht von sorgfältig gewaschenem Sand bedeckt. Das Leitungswasser wurde in Abständen von 2 Wochen zur Hälfte erneuert. Der Phosphatgehalt in den Aquarien betrug 2—4 mg PO_4 je Liter[1]. Der p_H-Wert in den Kulturaquarien lag zwischen 7,4 und 7,9.

Unter den beschriebenen Bedingungen gediehen die Pflanzen gut, zeigten keine Mangelerscheinungen und kamen zur Blüte. Trotz völlig gleicher Lebensbedingungen war das Wachstum während des Winters weniger gut als während des übrigen Jahres.

Zu Versuchen wurden die Pflanzen erst verwendet, nachdem sie mindestens einen Monat im Aquarium angezogen worden waren. Am Vortage des Versuches wurden die gesunden *Helodea*-Sprosse um 10 Uhr abgeschnitten, mit destilliertem Wasser[2] gewaschen und 8 Std hindurch in langsam strömendem destillierten Wasser unter Belichtung aufbewahrt. Der stündliche Durchfluß betrug 250 bis 300 cm^3 destillierten Wassers. Auf diese Weise sollte außer einer mechanischen Reinigung der *Helodea*-Sprosse etwa vorhandenes auswaschbares Phosphat aus den

[1] Phosphatbestimmungen wurden nach MARTLAND und ROBISON (1926) durchgeführt.

[2] Es fand bei allen Arbeiten nur in Glasgeräten destilliertes Wasser Verwendung.

Blättern entfernt werden. Bei Beendigung des Auswaschens war in dem abfließenden Wasser kein Phosphat nachweisbar. Um 18 Uhr wurden die Sprosse nacheinander aus dem Wasser genommen, die Blätter mit einer Pinzette abgezupft und gleichmäßig auf die Versuchsgefäße verteilt. Um die biologische Streuung zu verringern, erwies es sich als zweckmäßig, die Blätter der einzelnen Sprosse auf nicht mehr als 6 Versuchsgefäße zu verteilen, indem jeweils ein Blatt eines Wirtels in das erste Versuchsgefäß getan wurde und das zweite Blatt des gleichen Wirtels in das zweite Versuchsgefäß usw. Jedes Gefäß wurde mit etwa 50 Blättern beschickt, was je nach Blattgröße einer Fläche von 20—30 cm^2 entsprach. Die Versuchsgefäße wurden anschließend über Nacht unter Dunkelstürzen aufbewahrt. Manometrische Kontrollmessungen in der Apparatur nach VAN DER PAAUW (1932) ergaben, daß die Photosynthese der Blätter nach der beschriebenen Vorbehandlung nicht geschädigt war.

Zur Bestimmung der Fläche wurden die Blätter nach der Extraktion durch kalte TES dreimal mit je 50 cm^3 destilliertem Wasser gewaschen, anschließend mit Hilfe eines photographischen Vergrößerungsapparates auf Photopapier projiziert, dadurch vergrößert abgebildet und mit einem Planimeter ausgemessen. Innerhalb einer Versuchsreihe betrug die Abweichung der Blattflächen im allgemeinen nicht mehr als 5%.

b) Allgemeine Arbeitsmethodik mit radioaktivem Phosphor.

Der radioaktive Phosphor wurde als „trägerfreie" Orthophosphorsäure in wäßriger Lösung vom Isotopenlaboratorium der Medizinischen Forschungsanstalt Göttingen bezogen. Die gelieferte Lösung wurde mit destilliertem Wasser zur benötigten Konzentration verdünnt (5—7 Mikro-Curie in 5,0 cm^3 Wasser). Um eine möglichst hohe Aufnahme von radioaktivem Phosphor (^{32}P) durch die *Helodea*-Blätter zu erreichen, wurde eine Verdünnung der H ^{32}PO -Lösung, abgesehen von besonderen Kontrollversuchen, durch nicht radioaktive Orthophosphorsäure vermieden.

Zur Messung der radioaktiven Strahlung wurde das Strahlungsmeßgerät F.H. 41 der Firma Frieseke & Höpfner, Erlangen, mit angeschlossenem Glockenzählrohr für β-Strahlungen verwendet. Die Stärke des Glimmerfensters betrug 3,3 bzw. 3,49 mg/cm^2. Das Zählrohr war an einem Mikroskopstativ befestigt. Als Meßgefäße dienten runde Glasschalen mit flachem Boden (Durchmesser 41 mm, innere Höhe 13 mm, oberer, innerer Durchmesser 43 mm), in die jeweils 10,0 cm^3 der zu messenden Flüssigkeit pipettiert wurden. Die Messungen wurden immer unter den gleichen geometrischen Bedingungen vorgenommen (KAMEN 1951). Zur Kontrolle wurden die einzelnen Meßgefäße wiederholt mit ^{32}P-Lösung verschiedener Konzentration gefüllt. Bei den dann durchgeführten Messungen bestand kein Unterschied in der Anzahl der registrierten Impulse. Eine meßbare Absorption der Strahlung durch die in der zu messenden Flüssigkeit gelösten Substanzen in Konzentrationen, wie sie während der Versuche auftraten, erfolgte nicht. Die Ergebnisse aller Messungen wurden unter Berücksichtigung der Halbwertszeit von ^{32}P, der Zeitdauer der Auswertung der Versuche und des Nulleffektes umgerechnet. Für weitere Maßnahmen bei dem Arbeiten mit radioaktiven Isotopen vgl. man außer KAMEN (1951) auch GÖTTE (1951a, b), sowie MEYER-SCHÜTZMEISTER (1950).

c) Allgemeine Versuchsanordnung.

Bei den Versuchen fanden 50-cm^3-Bechergläser Verwendung, die als Einsatz zylindrische Glasgefäße hatten (Höhe der Einsätze 90 mm, innerer Durchmesser 25 mm, Boden mit 6 Löchern je 2 mm Durchmesser versehen). Die *Helodea*-Blätter befanden sich in diesen Einsätzen in 20,0 cm^3 destilliertem Wasser über Nacht im

Dunkeln. Bei Versuchsbeginn wurden jeweils 5,0 cm³ einer wäßrigen $H_3{}^{32}PO$-Lösung zu den in destilliertem Wasser befindlichen *Helodea*-Blättern gegeben. Nach Beendigung der Einlagerungszeit wurde der Einsatz mit den Blättern herausgenommen, damit die ^{32}P-Lösung durch die Löcher am Boden ablaufen konnte, und nacheinander in 3 mit destilliertem Wasser gefüllte Bechergläser getaucht, um die Blätter von äußerlich anhaftendem ^{32}P zu befreien; das war in 15 sec möglich. Die Aktivität des Wassers im letzten der 3 Bechergläser war niemals höher als 10—15 Imp./min, (weniger als 0,5% der im Durchschnitt von den Blättern aufgenommenen Menge an ^{32}P). Bei Kontrollen, die ohne Blätter in den Einsätzen durchgeführt wurden, lag die Aktivität nur wenige Imp./min über dem Nulleffekt des Zählrohres.

Die Möglichkeit des schnellen Befreiens der Blätter von anhaftendem ^{32}P ohne dabei die jeweilige Versuchsanordnung (Licht oder Dunkelheit) ändern zu müssen, schien ein besonderer Vorzug bei der Verwendung von *Helodea*-Blättern zu sein. Geringe Mengen von nicht entferntem anhaftendem ^{32}P bedeuten eine Fehlerquelle, die die zu untersuchenden Veränderungen des Phosphathaushaltes völlig verwischen können. Darüber hinaus ist nur bei vollständigem Entfernen des radioaktiven Phosphats eine Bestimmung der Gesamtaufnahme an ^{32}P durch die *Helodea*-Blätter möglich. Bei orientierenden Versuchen mit einzelligen Grünalgen, die *Helodea*-Blättern gegenüber den Vorteil größerer Einheitlichkeit haben, konnte eine derart schnelle und vollständige Abtrennung der Algen vom radioaktiven Außenmedium nicht erreicht werden.

Die Beleuchtung der Versuchsgefäße erfolgte von unten durch eine Mikroskopierlampe (6 Volt, 5 Amp., Beleuchtungsstärke etwa 6000 Lux) die durch einen Ventilator gekühlt wurde. Die Versuchstemperatur betrug im allgemeinen 22 bis 24° C. Die $H_3{}^{32}PO$-Lösungen hatten einen p_H-Wert von 4,5—5,0. Temperatur und p_H-Wert blieben während der einzelnen Versuchsreihen unverändert.

d) Trennung verschiedener mit ^{32}P markierter Phosphatfraktionen in Blättern von Helodea densa.

Nach Beendigung der ^{32}P-Aufnahme und dem Waschen wurden die Blätter durch Eintauchen der Versuchsgefäße in 7,0 cm³ kalte (5—7° C) 10%ige TES, die sich in 50-cm³-Bechergläsern befand, unter Zerstörung der Permeabilität rasch abgetötet. Waschen und Abtöten wurde je nach der Versuchsanordnung im Dunkeln oder bei den Lichtversuchen unter Beleuchtung durch die gleiche Lichtquelle durchgeführt. Nach einstündiger Extraktion bei 5—7° C wurde die 10%ige TES in Abständen von 1 Std dreimal erneuert (jeweils 5,0 cm³), um die in kalter TES löslichen Phosphatverbindungen vollständig aus den Blättern zu entfernen. Mit der vierten Extraktion ist ein Endpunkt erreicht (Tabelle 1, S. 285). Es ist zwar auch noch im fünften Extrakt eine geringe Aktivität vorhanden, die aber nicht von zurückgebliebenen TES-löslichen Phosphatverbindungen herzurühren braucht, sondern bereits von gespaltenen Phosphat-Eiweißverbindungen stammen kann (DAVIDSON und Mitarbeiter 1951). Daher wurde von einer mehr als viermaligen Extraktion abgesehen. Wie üblich, wurde bei niedriger Temperatur (5—7° C) gearbeitet, um die Hydrolyse leicht spaltbarer organischer Phosphatverbindungen zu verringern.

Mit der Möglichkeit, daß bereits durch kalte TES ein Teil der bekannten in TES löslichen labilen Phosphatverbindungen (UMBREIT und Mitarbeiter 1949, WIAME 1949, ALBAUM und Mitarbeiter 1950), sowie außerdem weitere sehr labile, bisher noch nicht identifizierte organische Phosphatverbindungen gespalten werden und sich dadurch dem Nachweis als organische Verbindung entziehen, ist zu rechnen (KAMEN und SPIEGELMANN 1948, GREEN und Mitarbeiter 1949, HOLZER und LYNEN 1950).

Als anorganische Orthophosphatfraktion wird in der vorliegenden Arbeit der Anteil des TES-Auszuges bezeichnet, der mit Magnesiamischung[1] in der Kälte bei Gegenwart von Ammoniak als Ammonium-Magnesium-Phosphat ausfällbar ist. Nicht ausgefällt werden organische Phosphatverbindungen, sowie etwa vorhandenes anorganisches Meta- und Pyrophosphat. Dieser Anteil wird allgemein als TES-lösliche organische Phosphatfraktion bezeichnet (LEHNINGER 1949, KAMEN 1951, DAVIDSON und Mitarbeiter 1951). Die während der Extraktion nicht gelösten organischen Phosphatverbindungen bilden die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion. Ungelöst bleiben vor allem Phospholipoide, Nukleoproteide und Phosphorproteide (SCHNEIDER 1945).

Die vereinigten TES-Auszüge wurden auf 25,0 cm³ aufgefüllt und in 10,0 cm³ dieses Extraktes die Aktivität bestimmt (= Gesamtaktivität des TES-Auszuges). Nach dem Ausfällen des anorganischen Orthophosphats wurde erneut die Aktivität bestimmt (= TES-lösliche organische Phosphatfraktion). Aus der Differenz (Gesamtaktivität des TES-Auszuges minus TES-lösliche organische Phosphatfraktion) ergibt sich die Aktivität der anorganischen Orthophosphatfraktion. Da die Menge des in den Blattextrakten vorhandenen anorganischen Orthophosphats zu gering ist, um im ammoniakalischen Medium mit Magnesiamischung als Ammonium-Magnesium-Phosphat auszufallen, mußte nichtaktives Trägerphosphat zugegeben werden, damit eine Ausfällung erreicht wurde (FRIEDKIN und LEHNINGER 1949, LEHNINGER 1949, GÖTTE 1951a). Die Ausfällung wurde bei einer Temperatur von 5—7° C vorgenommen, weil bei derartigen Versuchen die Gefahr der Hydrolyse labiler Phosphatverbindungen besteht, wenn nicht in der Kälte gearbeitet wird.

Tabelle 1. *Extraktion von Helodea-Blättern (vergleichbares Material) durch 10%ige TES nach vorheriger Assimilation von ^{32}P.*

	Versuch		
	I	II	III
1. Extraktion . .	1030	1006	1015
2. „ . .	264	281	233
3. „ . .	33	30	34
4. „ . .	7	7	7
5. „ . .	8	6	4
1.—5. „ . .	1342	1330	1289

Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm² Blattfläche, an. 1. Extraktion mit 7,0 cm³, 2. bis 5. Extraktion mit je 5,0 cm³ 10%iger TES. Extraktionstemperatur 5—7° C.

Die extrahierten Blätter wurden nach zweimaligem Waschen mit destilliertem Wasser durch Zugabe von 2,5 cm³ konzentrierter H_2SO und 0,5 cm³ Perhydrol feucht verascht. Die Lösung wurde ebenfalls auf 25,0 cm³ aufgefüllt und in 10,0 cm³ die Aktivität bestimmt.

Durch diesen Trennungsgang war also die Bestimmung des „anorganischen Orthophosphats", des „TES-löslichen organischen Phosphats", unter Einschluß von etwa vorhandenem anorganischem Meta- und Pyrophosphat und des „TES-unlöslichen organischen Phosphats" möglich (Fehlergrenzen vgl. folgenden Abschnitt).

Erwähnenswert erscheint noch die Tatsache, daß die Gesamtaufnahme von ^{32}P durch die *Helodea*-Blätter trotz gleicher Kulturbedingungen sehr unterschiedlich ist, offenbar beeinflußt durch Alter und Vorleben. Dieser Umstand gestattet in

[1] Die Magnesiamischung hatte folgende Zusammensetzung: 55,0 g $MgCl_2 + 6 \cdot H_2O$ und 100,0 g NH Cl werden in 550—600 cm³ destilliertem Wasser gelöst, dann werden 100,0 cm³ 15 n NH_2OH zugefügt und auf 1000,0 cm³ mit destilliertem Wasser aufgefüllt (LE PAGE 1949).

vielen Fällen nicht den unmittelbaren Vergleich aller Versuchsserien miteinander. Als vergleichbar erwiesen sich aber immer die Ergebnisse innerhalb einer Versuchsreihe, die mit gleichartigem Blattmaterial durchgeführt wurde.

e) Vorversuche.

Um die Vollständigkeit der Ausfällung radioaktiven anorganischen Orthophosphats unter den gegebenen Versuchsbedingungen zu prüfen, wurde zunächst ein nicht radioaktiver TES-Extrakt aus *Helodea*-Blättern hergestellt, dem $H_3{}^{32}PO_4$ in einer Konzentration zugesetzt wurde, wie sie in den radioaktiven Blattextrakten vorkommt. 20,0 cm³ dieses TES-Extraktes wurden mit 15 n NH_4OH neutralisiert (Phenolphthalein als Indikator), dazu 1,0 cm³ ammoniakalischer Magnesiamischung zugefügt und das Volumen in einem Meßkolben mit 15 n NH_4OH auf 25,0 cm³ gebracht. In einen zweiten 25-cm³-Meßkolben wurden 0,5 cm³ einer 0,01 Mol $Na_2HPO_4 + 12 \cdot H_2O$-Lösung (= 5 Mikromol) pipettiert, und dazu 23,0 cm³ der Lösung aus Kolben I in Kolben II gemessen, der dann mit Wasser auf 25,0 cm³ aufgefüllt wurde. Ein Niederschlag von Ammonium-Magnesium-Phosphat begann sich nach wenigen Minuten auszubilden. Nach Aufbewahren im Kühlschrank über Nacht wurde der Niederschlag abfiltriert. Bei der Messung der Aktivität des Filtrats ergab sich, daß etwa 1,5 % des radioaktiven anorganischen Orthophosphats nicht ausgefällt waren (Tabelle 2, S. 286). Die Ausfällung wurde durch längeres als 12stündiges Stehen im Eisschrank nicht weiter erhöht. Durch eine zweite Fällung mit Trägerphosphat unter den gleichen Bedingungen kann zwar der Anteil des nicht gefällten radioaktiven anorganischen Orthophosphats verringert werden, es ist dann jedoch mit einer erhöhten Mitfällung von radioaktiven Phosphatverbindungen der TES-löslichen organischen Fraktion zu rechnen, die sich auch bestätigte (FRIEDKIN und LEHNINGER 1949, LEHNINGER 1949).

Tabelle 2. *Fällung von $H_3{}^{32}PO_4$ nach Zugabe von 5 Mikromol nicht aktiven Trägerphosphats aus TES-Extrakten von Helodea-Blättern, die vorher kein ^{32}P assimiliert haben.*

		Extrakt		
		I	II	III
Aktivität der Extrakte		1061	2112	4432
Aktivität der Lösung nach der Fällung	1.	14	29	57
	2.	16	31	54
	3.	13	27	60

Die $H_3{}^{32}PO_4$-Lösung war den bereits durch TES abgetöteten Blättern zugesetzt worden. Die Ziffern geben die Anzahl der gemessenen Impulse je Minute an. 1.—3. sind Parallelbestimmungen.

Um Auskunft über die Menge des bei der Ausfällung des radioaktiven anorganischen Orthophosphats mitgefällten Anteils der TES-löslichen organischen radioaktiven Phosphatfraktion zu erhalten, stellte ich einen TES-Extrakt aus *Helodea*-Blättern her, in dem durch 10 min lange Assi-

Tabelle 3. *Fällung von radioaktivem anorganischem Orthophosphat durch Magnesiamischung aus einem TES-Extrakt von Helodea-Blättern, die vorher ^{32}P assimiliert hatten.*

	I	II	III
Nach der 1. Fällung hatte die TES-lösliche organische Fraktion Imp./min	1360	1362	1350
Nach der 2. Fällung	1237	1235	1232
Nach der 3. Fällung	1092	1092	1093

Die Fällung wurde 3mal mit je 5 Mikromol nicht aktivem Trägerphosphat durchgeführt. Der TES-Extrakt hatte 4164 Imp./min.

I—III sind Parallelbestimmungen. Die Ausfällung erfolgte in einem Extrakt gleicher ^{32}P-Konzentration.

milation von ^{32}P neben radioaktivem anorganischen Orthophosphat auch durch ^{32}P markierte Verbindungen der TES-löslichen organischen Fraktion vorhanden waren. Die Fällung des anorganischen Orthophosphats wurde, wie oben beschrieben, durchgeführt und dann zweimal wiederholt. Die Abnahme der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion betrug bei der zweiten und dritten Fällung etwa 10% (Tabelle 3, S. 287). Der Schluß, daß auch bereits bei der ersten Fällung ein Teil der Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion mitgefällt wird, erscheint berechtigt. Bei einer Erhöhung der Trägerphosphatmenge wird zwar die Ausfällung des radioaktiven anorganischen Orthophosphats besser, der Anteil der mitgefällten markierten ^{32}P-Verbindungen der TES-löslichen organischen Fraktion allerdings größer. Bei Verwendung geringerer Mengen als 5 Mikromol-Trägerphosphat ist die Übereinstimmung der Fällung aus TES-Extrakten gleicher ^{32}P-Konzentration wesentlich weniger gut. Geringfügig erscheinende Abweichungen von den angegebenen Bedingungen ergaben erhebliche Unterschiede bei der Ausfällung aus Extrakten gleichen ^{32}P-Gehaltes.

2. Die Versuche.

a) Abhängigkeit der Phosphataufnahme von der Temperatur.

Zunächst wurde die Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme von der Temperatur bei *Helodea*-Blättern untersucht. Es war zu hoffen, daß die Größe des Temperaturkoeffizienten auch Rückschlüsse auf den Vorgang der Phosphataufnahme bei den *Helodea*-Blättern gestatten würde.

Das Blattmaterial konnte in zwei parallelen Versuchsreihen bei + 3° C (Kühlung der Versuchsgefäße durch Eiswasser) und + 21° C 10 min hindurch in einer $H_3{}^{32}PO_4$-Lösung assimilieren. Dabei wurde gefunden, daß die ^{32}P-Aufnahme bei + 21° C mehr als 10fach höher war, als bei + 3° C (Tabelle 4, S. 288). Für die weiteren Untersuchungen

Tabelle 4. *^{32}P-Aufnahme von Helodea-Blättern innerhalb von 10 min bei + 3° C und bei + 21° C.*

	Versuchs-Nr.	Anorganisches Orthophosphat	TES-lösliches organisches Phosphat	TES-unlösliches organisches Phosphat	Gesamtphosphat
		Temperatur + 3° C.			
Licht	1	17	8	2	27
	2	15	10	4	29
Dunkelheit	3	15	6	1	22
	4	16	6	0	22
		Temperatur + 21° C.			
Licht	5	190	183	8	381
	6	216	188	7	411
Dunkelheit	7	289	72	6	367
	8	282	60	3	345

Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm² Blattfläche, an. Die Versuche wurden mit vergleichbarem Blattmaterial durchgeführt.

ergab sich aus dieser Feststellung die Notwendigkeit, streng auf die Einhaltung gleicher Temperatur innerhalb der einzelnen Versuchsreihen zu achten.

b) Einfluß von Licht und Dunkelheit auf den Phosphathaushalt.

Nach der Feststellung der Temperaturabhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme konnte nun mit den eigentlichen Versuchen begonnen werden. Es wurde zunächst eine derartige Einlagerungszeit für ^{32}P gewählt, bei der im Phosphathaushalt Unterschiede in Licht und Dunkelheit, wie nach einigen Vorversuchen festgestellt wurde, gut erkennbar sein mußten. Bei einer Einlagerungszeit von 9 min zeigten sich in der Tat wesentliche Unterschiede in der Aufnahme von ^{32}P durch *Helodea*-Blätter in die untersuchten Fraktionen bei Belichtung im Vergleich zu den Dunkelkontrollen. Es konnte festgestellt werden, daß im Licht gegenüber den Dunkelversuchen die Bildung TES-löslichen organischen Phosphats bei einer entsprechenden Verminderung des anorganischen Orthophosphats wesentlich erhöht ist (Tabelle 5, S. 289). Bei den Dunkelkontrollen ist im Gegensatz zu den Lichtversuchen das TES-lösliche organische Phosphat erniedrigt und das anorganische Orthophosphat erhöht. Die Aufnahme des ^{32}P in die TES-unlösliche organische Fraktion ist dagegen nur relativ gering und zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen Licht- und Dunkelversuchen. In Hinsicht auf die Gesamtaufnahme (letzte Spalte der Tabelle) ergaben sich bei einem Vergleich zwischen Licht und Dunkelheit hier keine gesicherten Unterschiede.

Im ganzen folgt also aus diesen Versuchen, daß die ^{32}P-Aufnahme in die TES-lösliche organische Fraktion bei Belichtung wesentlich *erhöht* ist.

Tabelle 5*. *^{32}P-Aufnahme durch Helodea-Blätter innerhalb von 9 min bei Licht und Dunkelheit.*

Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm² Blattfläche, an.

Nr.	Anorganisches Orthophosphat	TES-lösliches organisches Phosphat	TES-unlösliches organisches Phosphat	Gesamtphosphat	Nr.	Anorganisches Orthophosphat	TES-lösliches organisches Phosphat	TES-unlösliches organisches Phosphat	Gesamtphosphat
	Licht.					Dunkelheit.			
1	420	385	71	876	1	612	233	62	907
2	450	410	65	923	2	588	227	83	898
3	234	198	36	468	3	274	91	42	407
4	261	207	36	504	4	337	123	35	495
5	371	330	2	703	5	516	125	2	643
6	391	332	3	726	6	530	167	5	702
7	669	806	14	1489	7	1145	325	10	1480
8	705	730	12	1447	8	1143	292	11	1446
9	601	392	61	1054	9	776	284	57	1117
10	627	447	72	1146	10	804	256	68	1128
	Mittelwerte von Versuch 1—10.								
	473[1]	424[2]	37	934		672[1]	212[2]	38	902

Die Versuche mit gleicher Nummer sind mit vergleichbarem Blattmaterial durchgeführt.

[1] $t = 4{,}4 \quad P = 0{,}0015$; [2] $t = 4{,}9 \quad P = 0{,}0009$.

* Die statistische Sicherung wurde mit dem t-Test, vgl. PÄTAU (1943), durchgeführt. Folgende P-Werte gelten als Grenzen:

	$P > 0{,}05$	keine Sicherung,
$0{,}05 \geq$	$P > 0{,}01$	Zweifel an der Nullhypothese berechtigt,
$0{,}01 \geq$	$P > 0{,}0027$	schwache Sicherung,
$0{,}0027 \geq$	P	gute Sicherung.

c) Einfluß der Beleuchtungsstärke auf den Phosphathaushalt.

Es war nun erforderlich nachzuweisen, daß der Phosphathaushalt wirklich mit der Photosynthese im Zusammenhang steht und nicht durch andere Einflüsse während der Belichtung, wie z. B. eine Aufnahmeänderung infolge einer Viskositätsänderung im Licht, hervorgerufen wurde (z. B. STÅLFELT 1947, VIRGIN 1948). Bei einem unmittelbaren Zusammenhang von Phosphathaushalt und Photosynthese muß sowohl eine Abhängigkeit des Phosphathaushalts von der *Lichtintensität* als eine solche der *Lichtqualität* vorhanden sein, wie sie der Photosynthese selbst zukommt. Daher wurden die *Helodea*-Blätter während der ^{32}P-Aufnahme (10 min) unterschiedlich stark belichtet (400, 2200, 9000 Lux, neben Dunkelkontrollen). Die Infrarotstrahlung wurde dabei durch ein vorgeschaltetes BG 21-Filter absorbiert. Es zeigte sich ein Anstieg in der Bildung TES-löslichen organischen Phosphats und eine Abnahme

des anorganischen Orthophosphats bei steigender Beleuchtungsstärke bis etwa 2200 Lux. Durch noch weitere Erhöhung der Beleuchtungsstärke war keine weitere Zunahme TES-löslichen organischen Phosphats und keine Abnahme des anorganischen Orthophosphats zu erreichen (Abb. 1).

Zur Ermittlung dieses Zusammenhanges war es allerdings notwendig, Versuchsreihen mit nicht unmittelbar vergleichbarem Blattmaterial aufeinander zu beziehen. Daher wurden der ^{32}P-Gesamtaufnahme der Wert 1000 Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm² Blattfläche (Imp./Min./10 cm² Blattfläche), als relative Einheit zugrunde gelegt. Diese Umrechnung war deshalb möglich, weil zwischen der ^{32}P-Gesamtaufnahme bei den verschiedenen Beleuchtungsstärken (vgl. auch Tabelle 5, letzte Spalte) und den Dunkelversuchen keine signifikanten Unterschiede auftraten.

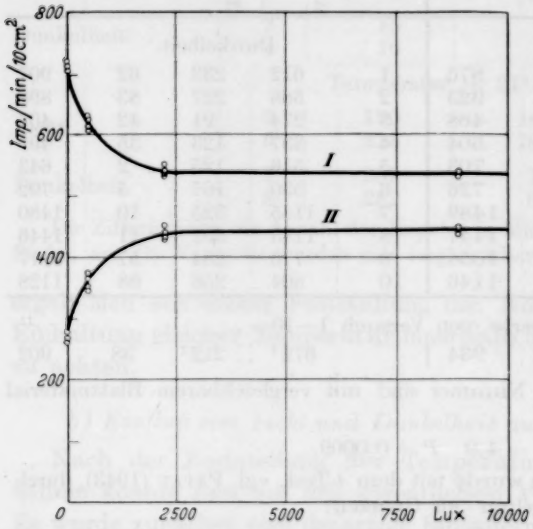


Abb. 1. Einfluß der Beleuchtungsstärke auf den Phosphathaushalt bei einer ^{32}P-Aufnahme von 10 min durch *Helodea*-Blätter. Kurve I: anorganisches Orthophosphat; Kurve II: TES-lösliches organisches Phosphat. Ordinate: Anzahl der relativen Impulse/min/10 cm². Gesamtaufnahme gleich 1000 Imp./min/10 cm². Abszisse: Beleuchtungsstärke in Lux

d) Einfluß der Lichtqualität auf den Phosphathaushalt.

Nach dem Nachweis einer deutlichen Abhängigkeit des Phosphatstoffwechsels von der Lichtintensität war es nun erforderlich, auch noch Beziehungen zur Lichtqualität zu prüfen. Es wurde allerdings nicht die Abhängigkeit des Phosphathaushaltes von einem größeren Spektralbereich untersucht, sondern nur festgestellt, ob auch im roten Spektralbereich eine Abhängigkeit des Phosphatstoffwechsels von der Belichtung vorhanden ist, da eine Abhängigkeit in diesem Bereich am ehesten auf eine Beeinflussung des Phosphathaushaltes durch die Photosynthese auf dem Wege über die Lichtabsorption im Chlorophyll hindeutet. Nach den sonst bekannten Befunden (WITHROW 1951) ist nämlich bei einer Abhängigkeit der Mineralstoffaufnahme von der Belichtung hier im wesentlichen nur der kurzwellige Spektralbereich beteiligt. Es zeigten sich bei diesen Versuchen, in denen das Blattmaterial 10 min hindurch im roten Licht ^{32}P assimilieren konnte, die gleichen Veränderungen im Phosphatstoffwechsel im Vergleich mit den Dunkelkontrollen,

wie sie im weißen Licht aufgetreten waren: eine Erhöhung der TES-löslichen organischen Fraktion und eine Verringerung des anorganischen Orthophosphats gegenüber den Dunkelversuchen (Tabelle 6, S. 291). Die Gesamtaufnahme im roten Licht war hier sogar etwas höher als bei Dunkelheit.

e) Abhängigkeit der Phosphataufnahme von der Zeitdauer der Einlagerung.

Um nun weiter die Abhängigkeit der Aufnahme des ^{32}P durch die *Helodea*-Blätter von der Zeit zu untersuchen, wurde das Blattmaterial zunächst 3, 6 und 9 min hindurch bei Licht bzw. Dunkelheit in einer $H_3{}^{32}PO_4$-Lösung

Tabelle 6. *Aufnahme von ^{32}P durch Helodea-Blätter innerhalb von 10 min bei Rotlicht und in Dunkelheit.*

Nr.	Anorganisches Orthophosphat	TES-lösliches organisches Phosphat	TES-unlösliches organisches Phosphat	Gesamtphosphat
		Rotlicht.		
1	562	483	57	1102
2	652	558	93	1303
3	564	423	97	1084
4	503	328	87	918
Mittelwerte	570	448	84	1102
		Dunkelheit.		
1	710	218	19	947
2	658	195	20	873
3	704	213	45	962
4	612	258	41	911
Mittelwerte	671	221	31	923

Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm² Blattfläche, an. Die Versuche mit gleicher Nummer sind mit vergleichbarem Blattmaterial durchgeführt.

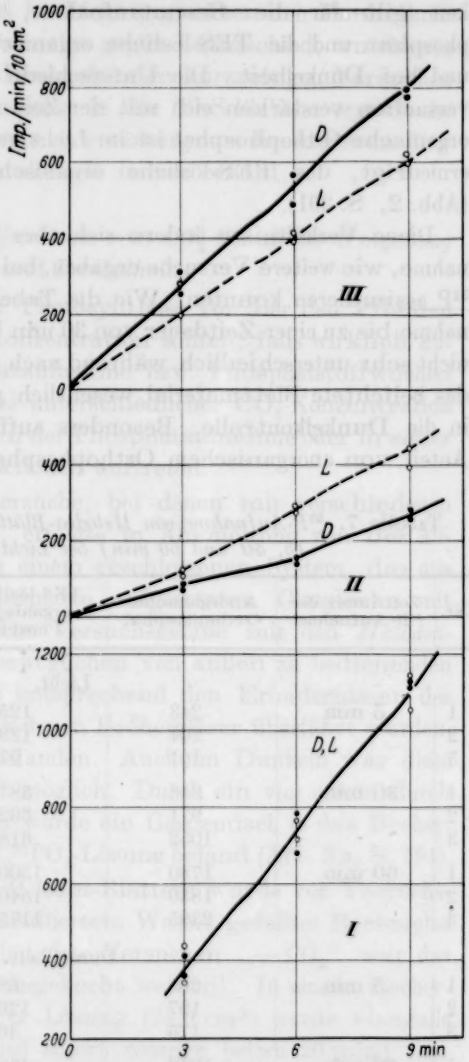


Abb. 2. ^{32}P-Aufnahme durch *Helodea*-Blätter in Licht und Dunkelheit in Abhängigkeit von der Zeit. Kurve I: ^{32}P-Gesamtaufnahme. Kurve II: TES-lösliches organisches Phosphat. Kurve III: anorganisches Orthophosphat. Gestrichelte Kurve = Licht; ausgezogene Kurve = Dunkelheit. Die Ordinate gibt Impulse/min/10 cm², die Abszisse die Zeitdauer der Versuche an.

belassen. Es ergab sich für die gewählten Zeiten eine annähernd lineare Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme von der Zeit. Diese Abhängigkeit gilt für die Gesamtaufnahme, für das anorganische Orthophosphat und die TES-lösliche organische Phosphatfraktion im Licht und bei Dunkelheit. Die Unterschiede zwischen Licht- und Dunkelversuchen verstärken sich mit der Zeit in gleicher Richtung: Das anorganische Orthophosphat ist im Licht gegenüber den Dunkelkontrollen erniedrigt, das TES-lösliche organische Phosphat dagegen erhöht (Abb. 2, S. 291).

Diese Verhältnisse ändern sich aber offenbar bei längerer ^{32}P-Aufnahme, wie weitere Versuche ergaben, bei denen die Blätter bis zu 60 min ^{32}P assimilieren konnten. Wie die Tabelle 7 zeigt, ist die Gesamtaufnahme bis zu einer Zeitdauer von 30 min bei Belichtung und im Dunkeln nicht sehr unterschiedlich, während nach 60 min die Gesamtaufnahme in das belichtete Blattmaterial wesentlich größer ist, als die Einlagerung in die Dunkelkontrolle. Besonders auffällig ist weiterhin der höhere Anteil von anorganischem Orthophosphat im Licht nur nach 60 min.

Tabelle 7. *^{32}P-Aufnahme von Helodea-Blättern in Abhängigkeit von der Zeit (5, 30 und 60 min) bei Licht und Dunkelheit.*

Nr.	Zeitdauer der ^{32}P-Aufnahme	Anorganisches Orthophosphat	TES-lösliches organisches Phosphat	TES-unlösliches organisches Phosphat	Gesamtphosphat
			Licht.		
1	5 min	243	125	18	386
2		204	129	9	342
3		161	97	7	265
1	30 min	946	587	186	1719
2		971	692	167	1830
3		1052	618	138	1808
1	60 min	1780	1300	645	3725
2		1830	1540	473	3843
3		2395	1175	316	3886
			Dunkelheit.		
1	5 min	265	68	8	341
2		197	126	7	330
3		175	36	17	228
1	30 min	1012	490	170	1672
2		1097	523	142	1762
3		1238	365	107	1710
1	60 min	1532	1038	515	3085
2		1492	853	208	2553
3		1792	483	246	2521

Die Versuche mit gleicher Nummer sind mit vergleichbarem Pflanzenmaterial durchgeführt. Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm^2 Blattfläche, an.

Schließlich ist die bei 30 und 60 min im Licht deutlich ansteigende Aufnahme radioaktiven Phosphats in die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion bemerkenswert, die im Licht gegenüber den Dunkelkontrollen wesentlich erhöht ist. Derartige große Unterschiede wurden in dieser Fraktion bei den bisher durchgeführten kurzzeitigen Versuchen nicht beobachtet. Die ^{32}P-Aufnahme in die TES-lösliche organische Phosphatfraktion ist überall, wie in den vorhergehenden kürzeren Versuchen auch hier, gegenüber Dunkelheit immer erhöht.

f) Abhängigkeit des Phosphatstoffwechsels vom CO_2-Gehalt der Umgebung bei Licht und Dunkelheit.

Wegen der Abhängigkeit der Photosynthese von der den Pflanzen zur Verfügung stehenden CO_2-Konzentration sollten, falls wirklich Zusammenhänge zwischen Phosphataufnahme bzw. Phosphatstoffwechsel und Photosynthese bestehen, bei unterschiedlicher CO_2-Konzentration des Mediums auch Unterschiede in der Phosphataufnahme oder in seiner Verteilung in die einzelnen Fraktionen auftreten.

Die Durchführung dieser Versuche, bei denen mit verschiedenen Gasgemischen gearbeitet wurde, erfolgte in Abweichung von der allgemeinen Versuchsanordnung in einem geschlossenen System, das aus einer tubulierten, auf eine Glasplatte aufgesetzten Glasglocke mit geschliffenem Rand bestand. Die Versuchsgefäße mit den *Helodea*-Blättern konnten durch einen beweglichen von außen zu bedienenden Arm im Innern der Glasglocke entsprechend den Erfordernissen des jeweiligen Versuchs in die verschiedenen Bechergläser überführt werden, die sich unter der Glasglocke befanden. Auch im Dunkeln war diese Manipulation ohne Schwierigkeit möglich. Durch ein von unten durch die Glasplatte geführtes Glasrohr wurde ein Gasgemisch in das Becherglas eingeleitet, in dem sich die $H_3{}^{32}PO_4$-Lösung befand (Abb. 3a, S. 294).

Das Versuchsgefäß mit den *Helodea*-Blättern wurde vor Versuchsbeginn im Dunkeln in ein mit destilliertem Wasser gefülltes Becherglas unter die Glasglocke gestellt (bei den Versuchen „$-CO_2$“ war das destillierte Wasser vorher noch ausgekocht worden). In einem Becherglas zum Sieden erhitzte $H_3{}^{32}PO$ -Lösung (25,0 cm^3) wurde ebenfalls unter die Glasglocke gesetzt und sofort solange (etwa 20 min) Gasgemisch in die heiße Lösung eingeleitet, bis die Temperatur auf $+26^0$ C abgesunken war. Bei den Versuchen „$+CO_2$“ wurde Luft, der etwa 5% CO_2 beigemischt war, verwandt, während bei den Versuchen „$-CO_2$“ nach Durchleitung durch konzentrierte Kalilauge von Kohlendioxyd befreite Luft eingeleitet wurde.

Nach Erreichung einer Temperatur von $+26^0$ C wurde das Versuchsgefäß mit den *Helodea*-Blättern in das Becherglas mit der $H_3{}^{32}PO_4$-

Lösung überführt und darin 10 min im Dunkeln oder im Licht belassen. Die mit dem Beginn der ^{32}P-Einlagerung einsetzende Beleuchtung erfolgte auch hierbei von unten durch eine Mikroskopierlampe (6 Volt,

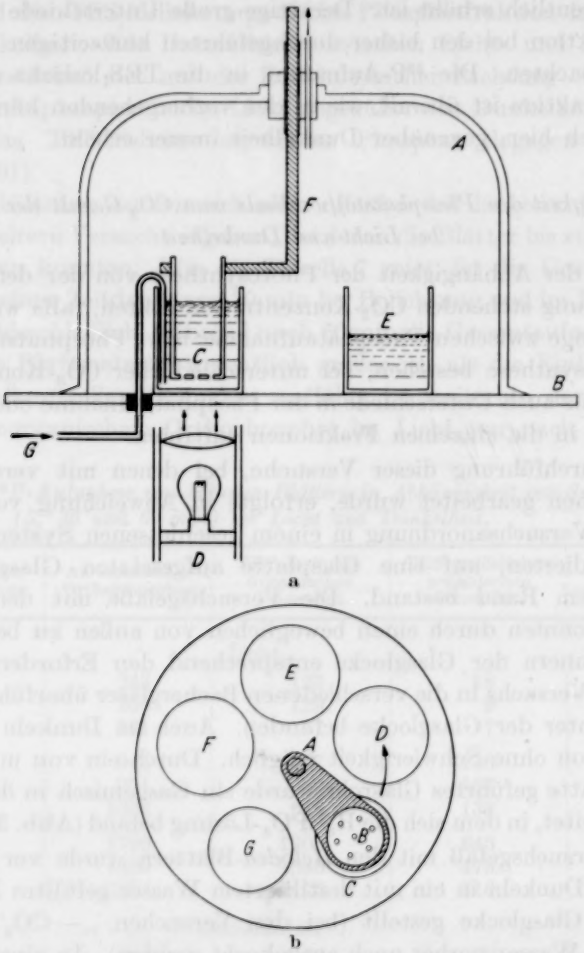


Abb. 3 a u. b. Versuchsanordnung zur Untersuchung der CO_2-Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme. a Seitenansicht; A Glasglocke; B Glasplatte; C Versuchsgefäß zur Aufnahme der *Helodea*-Blätter; D Lichtquelle; E Becherglas mit destilliertem Wasser; F Arm zum Bewegen des Einsatzgefäßes (C); G Rohr zum Einleiten des Gasgemisches. b. Ansicht von oben. A Arm zum Bewegen des Einsatzgefäßes; B Versuchsgefäß zur Aufnahme der Blätter; C Becherglas mit $H_3{}^{32}PO_4$-Lösung; D—F Bechergläser mit destilliertem Wasser zum Waschen der Blätter; G Becherglas mit 10%iger TES.

5 Amp.). Nach dieser Zeit wurden die Blätter unter der Glasglocke wie üblich gewaschen und durch 10%ige TES abgetötet (Abb. 3 b, S. 294).

Das Waschen und Abtöten erfolgte ebenfalls im Dunkeln bzw. unter Belichtung durch die gleiche Lichtquelle. Das System stand während

Tabelle 8. *Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme von „+ CO_2" und „— CO_2" im Licht und bei Dunkelheit. Mittelwerte von 10 Versuchen.*

	Licht				Dunkelheit			
+ CO_2								
Anorganisches Orthophosphat	1275[1]				1568[1]			
TES-lösliches organisches Phosphat		953[2, 3]				366[2]		
TES-unlösliches organisches Phosphat			36				31	
Gesamtphosphat				2264				1965
— CO_2								
Anorganisches Orthophosphat	1193[4]				1427[4]			
TES-lösliches organisches Phosphat		718[3, 5]				381[5]		
TES-unlösliches organisches Phosphat			37				33	
Gesamtphosphat				1948				1841

1. $t = 4{,}4$; $P = 0{,}0018$. 2. $t = 7{,}7$; $P = < 0{,}0002$. 3. $t = 4{,}1$; $P = 0{,}0025$. 4. $t = 4{,}2$; $P = 0{,}002$. 5. $t = 8{,}8$; $P = < 0{,}0002$.

Dauer der ^{32}P-Aufnahme 10 min. Die Ziffern geben die Anzahl der Impulse je Minute, berechnet auf 10 cm^2 Blattfläche, an.

der ganzen Zeit unter einem geringen Überdruck, der das Eindringen von Außenluft verhinderte.

Die Ergebnisse der Versuche (Tabelle 8, S. 295) bei einer Aufnahme von ^{32}P innerhalb von 10 min bei „+ und — CO_2" stimmten hinsichtlich der Unterschiede zwischen Hell und Dunkel mit den Resultaten überein, die sich bei den bisher durchgeführten Versuchen ergeben haben: wenig erhöhte ^{32}P-Gesamtaufnahme im Licht, die aber bei „+ CO_2" größer als bei „— CO_2" war. Geringe ^{32}P-Einlagerung in die TES-unlösliche organische Fraktion ohne signifikante Unterschiede zwischen Licht und Dunkelheit. In allen Lichtversuchen sowohl bei „+ CO_2" als auch bei „— CO_2" erfolgte eine stark erhöhte Bildung TES-löslichen organischen Phosphats gegenüber den Dunkelversuchen bei einer entsprechenden Abnahme an radioaktivem anorganischem Orthophosphat. Beim Vergleich der „+ CO_2" mit den „— CO_2"-Versuchen treten in bezug auf die Dunkelversuche kaum Unterschiede in Erscheinung. Dagegen ergibt sich im Licht in der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion bei CO_2-Gegenwart eine statistisch gut gesicherte Zunahme (953 Imp./Min./10 cm^2 Blattfläche gegenüber 718 Imp./min/10 cm^2 Blattfläche).

Obwohl der p_H-Wert während der Einlagerung in die Blätter in der umgebenden Flüssigkeit nur in dem engen Bereich von 4,5 bis 4,7 schwankte, ist die Möglichkeit einer stärkeren nicht zu messenden Änderung des p_H-Wertes innerhalb der Zelle leider nicht auszuschließen.

Auffällig ist, daß auch noch bei CO_2-Mangel eine deutliche Erhöhung der ^{32}P-Aufnahme in die TES-lösliche organische Fraktion im Licht gegenüber den Dunkelkontrollen auftrat, die aber erheblich geringer ist als in der Versuchsreihe „$+ CO_2$". Auf diesen Befund ist bei der Diskussion der Ergebnisse noch zurückzukommen. Im übrigen zeigen die Versuche aber, daß die geforderte Abhängigkeit des Phosphathaushalts vom CO_2-Gehalt der Umgebung der assimilierenden Blätter in der Tat vorliegt.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Als erstes, wichtiges Ergebnis der Hauptversuche ergibt sich, daß in den *Helodea*-Blättern im Licht eine *erhöhte* Bildung von Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion, sowie eine gleichzeitige *Verringerung* des anorganischen Orthophosphats gegenüber der Aufnahme im Dunkeln stattfindet. Weiter zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme in die TES-lösliche organische Fraktion von Lichtintensität und CO_2-Gehalt, und schließlich konnte nachgewiesen werden, daß auch allein im roten Licht eine erhöhte ^{32}P-Aufnahme in die genannte Fraktion vorhanden ist. Diese Ergebnisse machen einen Zusammenhang der Phosphataufnahme mit der Photosynthese sehr wahrscheinlich.

Daß ARONOFF und CALVIN (1948) bei ähnlichen Untersuchungen mit ^{32}P an *Chlorella* keine derartige im Licht erhöhte Bildung organischer Phosphate nachweisen konnten, hängt vermutlich damit zusammen, daß solche Versuche nur dann zu Ergebnissen führen, wenn die zur Einlagerung benutzte ^{32}P in ziemlich hoher Konzentration enthaltende Lösung schnell und weitgehend vom Versuchsmaterial entfernt wird, da sonst die Ergebnisse durch Adsorptionserscheinungen sehr beeinflußt werden können (vgl. oben S. 286), worauf verschiedentlich hingewiesen wurde (FRIEDKIN und LEHNINGER, DAVIDSON und Mitarbeiter, SACHS). Aus diesem Grunde wurde von mir ja gerade die hier verwendete Methodik ausgearbeitet.

Das Auftreten von phosphorylierten Photosynthesezwischenprodukten in den grundlegenden Untersuchungen von CALVIN und Mitarbeitern, BENSON und Mitarbeitern (1949—1952), sowie GAFFRON und Mitarbeitern (1951) bei Benutzung von ^{14}C entspricht demgegenüber den in der vorliegenden Arbeit mit ganz anderer Methode festgestellten Befunden.

KANDLER (1950), der sich bei seinen Versuchen auf die Untersuchung der Veränderung des im TES-Extrakt bestimmbaren nicht radioaktiven anorganischen ^{31}P beschränkte, stellte eine gleichsinnige Veränderung des anorganischen Orthophosphats bei *Chlorella* fest, wie ich sie bei *Helodea*-Blättern fand: Eine Verminderung im Licht und eine Erhöhung

in der Dunkelheit. Seine Befunde wurden durch HOLZER (1951) bestätigt. Ihre Untersuchungen konnten aber keine Auskunft über die Art der Veränderung geben, die das anorganische Orthophosphat während der Belichtung erfährt. So besteht die Möglichkeit, daß es in Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion oder auch in solche der TES-unlöslichen organischen Phosphatfraktion überführt wird. Die an *Helodea*-Blättern durchgeführten Untersuchungen konnten nun sicherstellen, daß die Verringerung des anorganischen Orthophosphats im Licht fast ausschließlich zugunsten des TES-löslichen organischen Phosphats erfolgt, während die Aufnahme von ^{32}P in die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion dagegen bei kurzfristigen Versuchen (9 und 10 min) gering ist (Tabellen 5 und 7). Hieraus folgt, daß Verbindungen dieser Fraktion an einem Zusammenwirken zwischen Phosphatstoffwechsel und Photosynthese wohl *nicht* maßgeblich beteiligt sein können.

Mit der Untersuchung der Aufnahme von ^{32}P in die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion bei *Chlorella* haben sich GEST und KAMEN (1948) beschäftigt und dabei in langfristigen Versuchen festgestellt, daß im Licht eine erhöhte Einlagerung von ^{32}P in diese Fraktion erfolgt. Unlängst kamen WINTERMANS und TJIA (1952) bei ihren Untersuchungen mit *Chlorella* unter Verwendung von ^{31}P ebenfalls bei länger dauernden Versuchen von mehreren Stunden, zu ähnlichen Ergebnissen wie GEST und KAMEN. Sie fanden bei Belichtung eine Abnahme des anorganischen Orthophosphats, das sie nach dem Abtöten der Algen durch TES unmittelbar im phosphathaltigen Medium bestimmten, und eine Zunahme der TES-unlöslichen organischen Phosphatfraktion, besonders des Anteils, der durch 1 n HCl bei 100° C innerhalb von 5 min aus dem Algenrückstand in Freiheit gesetzt wird.

Bei *Helodea*-Blättern war in Übereinstimmung mit diesen Autoren nach längeren Einlagerungszeiten (30 und 60 min) nun auch eine erhöhte Aufnahme von Phosphat in die TES-unlösliche Fraktion nachzuweisen (vgl. Tabelle 7). Man darf daher wohl mit Recht annehmen, daß die schließlich in der TES-unlöslichen organischen Fraktion auftretende, im Licht verstärkte ^{32}P-Aufnahme auf einer sekundären Umlagerung von radioaktivem Phosphat aus den TES-löslichen Fraktionen in die TES-unlösliche organische Fraktion beruht. Die Höhe der Einlagerung radioaktiven Phosphats in die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion dürfte außerdem auch von der Menge der durch die Pflanze gebildeten Eiweiße abhängig sein, die bei der schnellwachsenden Grünalge *Chlorella* größer ist als bei der langsam wachsenden *Helodea densa*. Dieser Umstand hat die Aufklärung der hier wirklich vorliegenden Verhältnisse offenbar nicht unwesentlich begünstigt.

In den Untersuchungen von WASSINK und Mitarbeitern (1951 a, b) und WINTERMANS und TJIA (1952), bei denen in langfristigen Versuchen mit nicht radioaktivem Phosphat gearbeitet wurde, ist vor allem ein Anwachsen des labilen Phosphats in der TES-unlöslichen organischen Phosphatfraktion bei Abwesenheit von CO_2 festgestellt worden. Das Ergebnis erscheint recht plausibel; denn bei CO_2-Mangel dürfte in diese Phosphatfraktion viel mehr Phosphat eingelagert werden, weil bei CO_2-Mangel das Gleichgewicht vom Kohlenhydratstoffwechsel wahrscheinlich zum Eiweißstoffwechsel hin verlagert ist. Die die phosphorylierten Kohlenhydrate und die bei der Photosynthese möglicherweise wichtigen labilen löslichen organischen Phosphatverbindungen enthaltende TES-lösliche organische Phosphatfraktion ist von den Autoren zwar untersucht, aber da keine Veränderungen in dieser Fraktion festgestellt wurden, nicht weiter zum Vergleich herangezogen worden. Was die Autoren als TES-lösliches Phosphat bezeichnen, ist das TES-lösliche anorganische Phosphat. Aus diesem Grunde und ferner dadurch, daß die Versuche im Gegensatz zu meiner Versuchsanordnung mehrere Stunden dauerten, sind die Ergebnisse von WASSINK und Mitarbeitern mit meinen Ergebnissen nicht unmittelbar vergleichbar.

Die in meinen Versuchen nachgewiesene Abhängigkeit des Phosphatstoffwechsels von der Beleuchtungsstärke (Abb. 1) entspricht in ihrem Kurvenverlauf mit einem Maximum bereits bei 2200 Lux einer der üblichen Photosynthesekurven, wie sie für Schwachlichtpflanzen auf Grund der Abhängigkeit der Assimilationsintensität von der Beleuchtungsstärke auftreten: Schon bei relativ niedriger Beleuchtungsstärke wird ein Maximum der Photosynthese erreicht. Bei den in meinen Versuchen vorhandenen Anzuchtbedingungen dürfte *Helodea densa* als Schwachlichtpflanze reagiert haben. Ähnliche Kurven für die Photosynthese von Schattenpflanzen finden sich z. B. bei RABINOWITCH (1951) u. a. nach Arbeiten von BOYSEN JENSEN und MÜLLER (1929) und GESSNER (1937) zusammengestellt. Auch dieser analoge Kurvenverlauf spricht für einen Zusammenhang von Phosphathaushalt und Photosynthese.

Bei pflanzlichen Geweben kann die Permeabilität und die Viskosität des Plasmas durch Belichtung verändert (STÅLFELT, PIRSON und SEIDEL) und dadurch die Aufnahme anorganischer Salze vergrößert werden (WITHROW 1951, OSTERHOUT 1952). Als wirksam erwies sich dabei nach bisherigen Untersuchungen von LEPESCHKIN (1930 und 1932) sowie OFFORD und D'URBAR (1931) offenbar vorwiegend der Wellenbereich zwischen 3200—4200 Å. Zum Nachweis, daß bei meinen Versuchen ein solcher Zusammenhang nicht besteht, wurde dieser Wellenbereich durch die Verwendung von rotem Licht ausgeschaltet. Da aber bei der Belichtung der ^{32}P assimilierenden *Helodea*-Blätter durch rotes Licht

eine gleichartige Veränderung des Phosphathaushalts wie im weißen Licht hervorgerufen wurde, sind die beobachteten Lichteinflüsse vermutlich weniger auf eine Veränderung der „Permeabilität" oder Viskosität des Plasmas zurückzuführen, sondern stehen wohl eher im Zusammenhang mit der Photosynthese.

Nach dem bisher Gesagten war nun vor allem aber ein Einfluß der CO_2-Versorgung auf die Phosphataufnahme zu erwarten. In der Tat fand im Licht bei Gegenwart von CO_2 eine wesentlich erhöhte Bildung TES-löslichen organischen Phosphats gegenüber den CO_2-Mangelversuchen statt (Tabelle 8). Bei CO_2-Mangel machten sich aber außerdem im Phosphathaushalt der *Helodea*-Blätter bei Belichtung und in Dunkelheit die gleichen Unterschiede bemerkbar, wie sie bei den bisher besprochenen Versuchen aufgetreten waren. Es darf dabei jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß bei den Versuchen mit „— CO_2" selbst bei vollständiger CO_2-Freiheit der Apparatur den *Helodea*-Blättern noch das bei der Atmung freiwerdende Kohlendioxyd zur Photosynthese zur Verfügung steht. Außerdem können die Blätter möglicherweise noch über geringe Mengen von im Zellsaft gelösten Bikarbonats verfügen, das ebenfalls als CO_2-Quelle dienen kann. Allerdings ist selbst unter Berücksichtigung dieser Faktoren die Bildung TES-löslichen organischen Phosphats bei der Versuchsanordnung „— CO_2" im Licht gegenüber den entsprechenden Dunkelkontrollen noch derart hoch, daß eine erhöhte Bildung TES-löslichen organischen Phosphats auch bei völliger Abwesenheit des Kohlendioxyds noch möglich erscheint. In diesem Fall wäre an einen Zusammenhang des Phosphatstoffwechsels mit dem unabhängig von der CO_2-Aufnahme verlaufenden Anteil der Photosynthese zu denken. Es würden dann im Licht bei Abwesenheit von CO_2 energiereiche Phosphatverbindungen gebildet, die nach der Zufuhr von Kohlendioxyd zum weiteren Aufbau von phosphorylierten Photosynthese-Zwischenprodukten dienen könnten. Diese Auffassung bedarf aber einer gründlichen weiteren Prüfung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche zeigen also, daß die untersuchten Faktoren Lichtintensität, Lichtqualität und CO_2-Gehalt, welche Höhe und Verlauf der Photosynthese bestimmen, auch in ganz analoger Weise den Phosphathaushalt, speziell die Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion und das Vorhandensein von anorganischem Orthophosphat beeinflussen, so daß beider Zusammenhang, soweit er nicht schon sonst aus der Literatur hervorgeht, sich immer deutlicher ergibt. Aufgabe weiterer Versuche muß es sein, im einzelnen zu klären, ob an einem oder mehreren Punkten des Photosyntheseablaufs die zur Phosphorylierung notwendige Energie von dem Photosyntheseprozeß selbst geliefert wird, oder aber aus dem Abbau schon vorhandener Kohlenhydrate entstammt, und in welche spezifischen

Intermediärprodukte der Photosynthese mit Hilfe der Phosphorylierungsprozesse Phosphat eingebaut wird. Einige phosphorylierte Zwischenprodukte sind ja durch die so erfolgreichen Arbeiten von CALVIN, BENSON und Mitarbeitern, sowie GAFFRON und Mitarbeitern mit Hilfe von ^{14}C bereits festgestellt worden.

Anschließend möge noch darauf hingewiesen sein, daß die in der vorliegenden Arbeit verwendeten und vielfach gebräuchlichen Trennungsmethoden für organische Phosphatverbindungen für besonders labile Phosphatverbindungen nicht ohne weiteres benutzt werden können (vgl. bereits LOWRY und LOPETZ, neuerdings ALBAUM 1952), da trotz Verwendung kalter TES labile organische Phosphatverbindungen doch teilweise hydrolysiert werden, also die anorganische Orthophosphatfraktion erhöhen, und damit der Bestimmung als organische Verbindung nicht mehr zugänglich sind. Mit inzwischen verbesserten Methoden wird aber im Institut hierüber weiter gearbeitet, worüber in Kürze an anderer Stelle zu berichten sein wird.

Zum Schluß ist nun noch auf die Ergebnisse der Phosphataufnahme selbst bei *Helodea densa* einzugehen. Bei der Untersuchung der Aufnahme von ^{32}P durch *Helodea*-Blätter bei verschiedener Temperatur ergab sich eine mehr als 10fach höhere Aufnahme bei + 21° C gegenüber + 3° C (Tabelle 4). Der sehr hohe Temperaturkoeffizient läßt darauf schließen, daß die ^{32}P-Aufnahme bzw. die unmittelbar folgende Akkumulierung in den Zellen in der Hauptsache an Stoffwechselvorgänge der Zelle gekoppelt ist. Bei einer ausschließlichen Aufnahme von ^{32}P durch Diffusion müßte der Temperaturkoeffizient wesentlich niedriger liegen. Der Theorie einer alleinigen Diffusion (so z. B. GESSNER und KAUKAR) kann ich mich also auf Grund meiner kurzfristigen Versuche und auch der folgenden Überlegungen nicht anschließen.

Über den Mechanismus der Aufnahme von Phosphat in pflanzliche Zellen besteht keineswegs Klarheit (STEINBACH). Die Aufnahme scheint von einer Bindung an eine spezifische organische Trägersubstanz abhängig zu sein. Nach ROBERTSON (1951) erfolgt diese Bindung wahrscheinlich an eine bisher noch nicht bekannte unbeständige Verbindung des Stoffwechsels. Auch KAMEN und SPIEGELMANN (1948) kamen auf Grund der Ergebnisse ihrer Untersuchungen über die Aufnahme von ^{32}P durch Hefe zu der Annahme, daß die wesentlichste Aufnahme über eine organische Bindung führt. Diese Phosphatverbindungen werden unter Umständen aber bereits bei der üblichen und auch hier benutzten Extraktion des Materials mit kalter TES hydrolysiert. Das dabei entstandene anorganische Orthophosphat ist nunmehr als Ammonium-Magnesium-Phosphat fällbar. Durch die Spaltung entgehen also diese labilen Substanzen dem Nachweis als organische Phosphatverbindungen. Die anorganische Orthophosphatfraktion darf in Hinsicht auf ihren

Ursprung daher nicht als homogen angesehen werden: ein Teil des nach der Extraktion durch kalte TES vorliegenden anorganischen Orthophosphats kann durch diese Behandlung aus labilen organischen Verbindungen in Freiheit gesetzt worden sein und ein anderer Teil aus Dephosphorylierungsprozessen stammen und deshalb schon in anorganischer Form zur Zeit der Extraktion in der Zelle vorliegen. Zu diesem Anteil würde dann auch noch die Phosphatmenge gehören, die durch einen möglicherweise vorhandenen spezifischen Mechanismus entsteht, durch den neu in organische Bindung aufgenommenes Phosphat bald nach seiner Aufnahme im Zellinnern wieder als anorganisches Orthophosphat freigesetzt wird.

Zusammenfassung.

1. Um Zusammenhänge zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese nachzuweisen, wurden Untersuchungen an Blättern von *Helodea densa* unter Verwendung von ^{32}P durchgeführt. Es wurde eine Methode entwickelt, die ein schnelles Befreien der Blätter von anhaftendem ^{32}P gestattete und eine Auftrennung des durch die Blätter aufgenommenen ^{32}P in 3 Fraktionen ermöglichte. Aus den TES-Extrakten wurde das organische Orthophosphat als Ammonium-Magnesium-Phosphat ausgefällt (anorganische Orthophosphatfraktion). Die nicht ausgefällten Phosphatverbindungen stellten die TES-lösliche organische Phosphatfraktion dar. Der nach der Extraktion zurückgebliebene Anteil bildete die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion.

2. Es ergab sich eine starke Abhängigkeit der ^{32}P-Aufnahme von der Temperatur.

3. Es trat im Licht eine Zunahme der Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion und eine Abnahme des anorganischen Orthophosphats gegenüber den Dunkelversuchen auf.

4. Die ^{32}P-Aufnahme in die TES-unlösliche organische Phosphatfraktion war bei kurzzeitigen Versuchen nur gering, auch zeigten sich in dieser Fraktion keine Unterschiede zwischen Licht- und Dunkelaufnahme. Bei längerer Versuchsdauer (30 und 60 min) nahm die Aufnahme erheblich zu; dann war auch eine erhöhte Aufnahme im Licht in diese Fraktion gegenüber den Dunkelkontrollen festzustellen. Es erscheint die Annahme berechtigt, daß es sich dabei um sekundäre Vorgänge handelt.

5. Die ^{32}P-Aufnahme in die TES-lösliche organische Phosphatfraktion war von der Beleuchtungsstärke abhängig. Sie stieg bei einer entsprechenden Verringerung der ^{32}P-Aufnahme in die anorganische Orthophosphatfraktion bis zu einem Maximum von 2200 Lux an.

6. Im roten Spektralbereich traten gegenüber den Dunkelversuchen die gleichen Unterschiede im Phosphathaushalt auf wie im weißen Licht.

7. Es wurden Versuche bei Gegenwart von CO_2 (Luft + 5% CO_2) und bei CO_2-Mangel (Luft — CO_2) durchgeführt. Bei „+ CO_2" machte sich gegenüber den CO_2-Mangelversuchen im Licht eine erhöhte Bildung von Verbindungen der TES-löslichen organischen Phosphatfraktion bemerkbar.

8. Bei den CO_2-Mangelversuchen war die ^{32}P-Aufnahme im Licht gegenüber den Dunkelversuchen in die TES-lösliche organische Phosphatfraktion noch sehr erhöht. Dieser Befund schließt die Möglichkeit in sich, daß es im Licht auch bei Abwesenheit von CO_2 noch zu einer Bildung von energiereichem Phosphat kommen könnte.

Literatur.

ALBAUM, H. G.: Annual Rev. Plant Physiol. **3**, 35 (1952). — ALBAUM, H. G. M. OGUR u. A. HIRSHFELD: Arch. Biochem. **27**, 130 (1950). — ALBAUM, H. G. A. SCHATZ, S. H. HUTNER u. A. HIRSHFELD: Arch. Biochem. **29**, 210 (1950). — ARONOFF, S., and M. CALVIN: Plant Physiol. **23**, 351 (1948). — BENSON, A. A., and M. CALVIN: Annual Rev. Plant Physiol. **1**, 25 (1950). — BENSON, A. A., J. A. BASSHAM, M. CALVIN, T. C. GOODALE, V. A. HAAS and W. STEPKA: J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1710 (1950). — BENSON, A. A., J. A. BASSHAM, M. CALVIN, A. G. HALL, H. E. HIRSCH, S. KARRAGUCHI, V. LYNCH and E. TOLBERT: J. of Biol. Chem. **196**, 703 (1952). — BONNER, J.: Plant Biochemistry. New York: Academic Press 1950. — BOYSEN JENSEN, P., u. D. MÜLLER: Jb. wiss. Bot. **70**, 503 (1929). — BURK, D., u. O. WARBURG: Z. Naturforsch. **6b**, 12 (1951). — CALVIN, M., J. A. BASSHAM, A. A. BENSON, V. H. LYNCH, C. OUELLET, L. SCHOU, W. STEPKA and N. E. TOLBERT: Symposia Soc. Exper. Biol. **5**, 284 (1951). — DAVIDSON, J. N., S. C. FRAZER and W. C. HUTCHISON: Biochemic. J. **49**, 311 (1951). — EMERSON, R., J. E. STAUFFER and W. W. UMBREIT: Amer. J. Bot. **31**, 107 (1944). — FRIEDKIN, M., and A. L. LEHNINGER: J. of Biol. Chem. **174**, 757 (1948); **177**, 775 (1949). — GAFFRON, H.: Naturwiss. **27**, 273 (1940). — J. Gen. Physiol. **26**, 195 (1942). — GAFFRON, H., and E. W. FAGER: Annual Rev. Plant Physiol. **2**, 67 (1951). — GAFFRON, H., E. W. FAGER and J. L. ROSENBERG: Symposia Soc. Exper. Biol. **5**, 262 (1951). — GESSNER, F.: Jb. wiss. Bot. **85**, 267 (1937). — GESSNER, F., u. A. KAUKAR: Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 155 (1952). — GEST, H., and M. D. KAMEN: J. of Biol. Chem. **176**, 299 (1948). — GÖTTE, H.: Strahlenther. **85**, 3 (1951a). — Angew. Chem. **63**, 434 (1951b). — GREEN, D. E., W. A. ATCHLEY, J. NORDMANN u. L. Y. TEPLY: Arch. Biochem. **24**, 359 (1949). — HOLZER, H.: Z. Naturforsch. **6b**, 424 (1951). — Angew. Chem. **64**, 248 (1952). — HOLZER, H., u. F. LYNEN: Liebigs Ann. Chem. **569**, 138 (1950). — KALKAR, H. M.: Chem. Review **28**, 71 (1941). — KAMEN, M. D., and S. SPIEGELMANN: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **13**, 151 (1948). — KANDLER, O.: Z. Naturforsch. **5b**, 423 (1950). — KOK, B.: Enzymologia **13**, 1 (1947). — LEHNINGER, A. L.: J. of Biol. Chem. **178**, 625 (1949). — LEPESCHKIN, W. W.: Amer. J. Bot. **19**, 547 (1932). — LIPMANN, F.: Adv. Enzymol. **1**, 99 (1941). — LOOMIS, W. F., and F. LIPMANN: J. of Biol. Chem. **175**, 807 (1949). — LOWRY, O. H., and J. A. LOPETZ: J. of Biol. Chem. **162**, 421 (1946). — LYNEN, F.: Naturwiss. **30**, 398 (1942). — LYNEN, F., u. H. HOLZER: Liebigs Ann. Chem. **563**, 213 (1949). — MARTLAND, M., and R. ROBISON: Biochemic. J. **20**, 848 (1926). — MEYERHOF, O., P. OHLMEYER u. W. MÖHLE: Biochem. Z. **297**, 90, 113 (1938). — MEYER-SCHÜTZMEISTER, L.: Naturwiss. **37**, 501 (1950). — OCHOA, S.: Physiologic. Rev. **31**, 56 (1951). — OFFORD, H. R., and R. P. D'URBAL: J. Agricult. Res. **43**, 791 (1931). — OSTERHOUT, W. J. V.: J. Gen. Physiol. **35**, 579 (1952). — PAAUW,

F. VAN DER: Rec. Trav. bot. néerl. **29**, 497 (1952). — PÄTAU, K.: Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — PAGE, G. ALE: In W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS u. J. F. STAUFFER, Manometric Techniques and Tissue Metabolism. Minneapolis: Burgess Publishing Co. 1949. — PIRSON, A.: Fortschr. Bot. **12**, 247 (1949). — PIRSON, A., u. F. SEIDEL: Planta (Berl.) **38**, 431 (1950). — RABINOWITCH, E. J.: Photosynthesis and Related Processes, Bd. I. New York 1945. Bd. II, Teil 1. New York 1951. — ROBERTSON, R. N.: Annual. Rev. Plant Physiol. **2**, 1 (1951). — RUBEN, S.: J. Amer. Chem. Soc. **65**, 279 (1943). — SACHS, J. J.: J. of Biol. Chem. **181**, 655 (1949). — SCHNEIDER, W. C.: J. of Biol. Chem. **161**, 293 (1945). — SIMONIS, W., u. K. H. GRUBE: Z. Naturforsch. **7b**, 194 (1952); **8b** (1953). — STÅLFELT, M. G.: Ark. Bot. A **33**, 1 (1946). — STEINBACH, H. B.: Annual Rev. Plant Physiol. **2**, 323 (1951). — UMBREIT, W. W., R. H. BURRIES and J. F. STAUFFER: Manometric Techniques and Tissue Metabolism. Minneapolis: Burgess Publishing Co. 1949. — VIRGIN, H. J.: Physiol. Plantarum **1**, 147 (1948). — VISHNIAC, C. W., and S. OCHOA: J. of Biol. Chem. **195**, 75 (1952). — VOGLER, K. G.: J. Gen. Physiol. **26**, 103 (1942). — VOGLER, K. G., and W. W. UMBREIT: J. Gen. Physiol. **26**, 157 (1942). — WARBURG, O.: Z. Elektrochem. u. angew. physik. Chem. **55**, 447 (1951). — WARBURG, O., u. W. CHRISTIAN: Biochem. Z. **303**, 40 (1939). — WASSINK, E. C., J. E. TJIA u. J. F. G. M. WINTERMANS: Proc. Kon. nederl. Akad. Wetensch. **52**, 412 (1949). — WASSINK, E. C., J. E. G. M. WINTERMANS u. J. E. TJIA: Proc. Kon. nederl. Akad., Wetensch. C **54**, 41 (1951a). — Proc. Kon. nederl. Akad. Wetensch. C **54**, 496 (1951b). — WIAME, J. M.: J. of Biol. Chem. **178**, 919 (1949). — WILDMAN, S. G., J. M. CAMPELL and J. BONNER: J. of Biol. Chem. **180**, 273 (1949). — WINTERMANS, J. F. G. M., u. J. E. TJIA: Proc., Kon. nederl. Akad. Wetensch. C **55**, 34 (1952). — WITHROW, R. B.: In Mineral Nutrition of Plants, S. 389ff. Wisconsin 1951.

Dr. K. H. GRUBE, Botanisches Institut, Tierärztliche Hochschule Hannover.

Planta, Bd. 42, S. 304—348 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität München.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG VON 2,4-DICHLORPHENOXYESSIGSÄURE, α-NAPHTHYLESSIGSÄURE, NATRIUMFLUORID UND VITAMIN B_1 AUF DEN STOFFWECHSEL IN VITRO KULTIVIERTER MAISWURZELN*.

Von

OTTO KANDLER**.

Mit 25 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. März 1953.)

A. Einleitung.

Schon bald nach der Entdeckung der Wuchsstoffeigenschaften der β-Indolylessigsäure (IES) (vgl. SÖDING 1952) wurde vor allen Dingen durch die systematischen Untersuchungen am Boyce Thompson Institut eine Reihe von Stoffen bekannt (ZIMMERMANN und Mitarbeiter 1936, 1937), die in den verschiedensten Wuchsstoff-(WS)-Testen der IES ähnliche Wirkungen hervorbrachten. Neben einer Reihe von Indolderivaten erwies sich auch die α-Naphthylessigsäure (NES) als außerordentlich wirksam und fand später sowohl in der Praxis als Mittel zur Stecklingsbewurzelung, zur Erzeugung von Parthenokarpie oder Verhinderung des vorzeitigen Fruchtabfalles (vgl. AVERY und JOHNSON 1947), als auch bei der Kultur isolierten Gewebes (vgl. GAUTHERET 1942, 1947) vielfach Verwendung.

Eine noch größere Bedeutung erlangte die 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D), die bei den Untersuchungen des amerikanischen Amtes für chemische Kriegführung unter den mehr als tausend geprüften Substanzen als eine der wirksamsten erkannt wurde (THOMPSON und Mitarbeiter 1946, SYNERHOLM und Mitarbeiter 1947a, 1947b). Auf Pflanzen aufgesprüht verursacht sie ein sehr starkes Streckungswachstum, das zu vollständiger Erschöpfung und zum Absterben der Pflanzen führt. Die Tatsache, daß die Gräser auf Grund ihrer geringeren Benetzbarkeit (FROHBERGER 1951) gegen den WS weitgehend resistent sind, führte zur Verwendung der 2,4-D als Unkrautbekämpfungsmittel. Die Zahl der Arbeiten, in denen die morphologischen und cytologischen Veränderungen als Folge der 2,4-D-Einwirkung beschrieben sind, wuchs seitdem außerordentlich an und viele davon sind von FROHBERGER 1951) zusammengestellt.

---

* Seinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. KARL SUESSENGUTH in Verehrung und Dankbarkeit zum 60. Geburtstag gewidmet.

** Habilitationsschrift der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München.

Zahlreiche Arbeiten beschäftigen sich mit der stoffwechselphysiologischen Wirkung dieser häufig unter dem Ausdruck „Auxone" zusammengefaßten WS. Sie sind allerdings mit so vielfältigen Methoden und so unterschiedlichem Material ausgeführt, daß es trotz vieler interessanter Einzelergebnisse heute noch nicht möglich ist, ein Gesamtbild der durch die WS bedingten Stoffwechselveränderungen zu entwerfen. Sicher scheint zu sein, daß besonders der Kohlenhydratstoffwechsel beeinflußt wird, wie die unter anderen von SMITH und Mitarbeitern (1947), BROWN (1946) und FROHBERGER (1951) gefundene Verschiebung des Verhältnisses Zucker/Stärke zugunsten der Zucker anzeigt. Auch für NES konnten KRAUS und MITCHELL (1939), MITCHELL und STEWART (1939) und MITCHELL und Mitarbeiter (1940) zeigen, daß der Stärkeabbau beschleunigt wird. Freilich gibt es auch gegenteilige Befunde, wie z. B. von LOWELL und Mitarbeitern (1950), die bei Bohnenpflanzen keinen Einfluß von 2,4-D auf das Zucker/Stärke-Verhältnis fanden.

Atmungsmessungen im Anschluß an 2,4-D-Behandlung wurden vielfach ausgeführt. KELLY und AVERY (1949), SMITH (1948), NICKELL (1950) und SMITH und Mitarbeiter (1947) fanden dabei übereinstimmend eine Steigerung der Atmungsintensität. Andere Autoren untersuchten die Beeinflussung der Enzymaktivitäten (WAGENKNECHT und Mitarbeiter 1951, MILLER und BURRIS 1951, NEELY und Mitarbeiter 1950). Während Oxydasen durch 10^{-4} m 2,4-D gehemmt wurden, erwiesen sich Invertasen und Phosphatasen als unempfindlich.

Vielfach hat sich heute im Anschluß an die Befunde und Hypothesen von BONNER und WILDMANN (1949) für die inzwischen als pflanzeneigener WS sichergestellte IES (vgl. SÖDING 1952) die Annahme durchgesetzt, daß die Streckungswuchsstoffe als Co-Fermente in den Stoffwechsel eingreifen. Allerdings ist die Diskussion darüber noch lange nicht abgeschlossen und zahlreiche Befunde sprechen auch heute noch dafür, daß die Auxone primär nur auf die Struktur der Membranen und auf die Wasserpermeabilität wirken, was z. B. BURSTRÖM (1951a) mit folgenden Worten ausdrückt: „The consequence of the given interpretation is, of course, that the auxin action is not primarily connected with the nitrogen metabolism nor with the synthesis of wall substances. . . . The results hardly support the assumption that auxin acts by regulating some part of intermediary metabolism, but speak more in favour of the hypothesis that it acts upon the structures of the cell an the ensuing water absorption."

Trotz der Fülle von Arbeiten, von denen die angeführten nur eine mehr oder weniger willkürliche Auswahl darstellen, erschien es wünschenswert, an möglichst einheitlichem Material und mit vergleichbarer Methodik mehrere durch WS-Zusatz verursachte stoffwechselphysiologische Veränderungen während des Wachstums zu untersuchen.

Kürzlich (KANDLER und VIEREGG 1952) wurden bereitsdie Wirkungen verschiedener IES-Konzentrationen auf Längenwachstum, Trockengewichtszunahme, Stickstoffeinbau, Glucoseverbrauch, Atmungsintensität und respiratorischen Quotienten (RQ) von in vitro kultivierten Maiswurzeln und Spargelsprossen untersucht. Dabei ergaben sich sehr spezifische Unterschiede unter anderem im Verhältnis Stickstoffeinbau/Trockengewichtszunahme, so wie im synthetischen Wirkungsgrad (SW = assimilierte Glucose/veratmete Glucose; nicht identisch mit dem ökonomischen Koeffizienten). Es lag daher nahe, mit Hilfe der Organkultur auch die besonders wirksamen anderen WS, wie 2,4-D und NES ganz entsprechend zu untersuchen und die Ergebnisse mit denen bei IES erzielten zu vergleichen. Weiterhin war es von Interesse, Stoffe, deren Angriffspunkte innerhalb des Stoffwechsels bekannt sind, ebenfalls in die Versuche einzubeziehen, um daraus eventuell Analogieschlüsse auf den Wirkungsmechanismus der WS ziehen zu können.

Als gut bekanntes Co-Ferment des Atmungsstoffwechsels wurde Vitamin B_1 gewählt, das bekanntlich in seiner phosphorylierten Form (Aneurinpyrophosphat) als Co-Carboxylase bei allen dehydrierenden Decarboxylierungen beteiligt ist (vgl. BONNER 1950). Bereits ROBBINS und BARTLEY (1937) konnten den günstigen Einfluß von B_1 auf isolierte Tomatenwurzeln nachweisen. Für die unbegrenzte Kultur isolierter Erbsenwurzeln ist es nach den Befunden von BONNER und ADDICOTT (1938) unerläßlich. Dagegen schienen isolierte Maiswurzeln unabhängig von B_1-Zusatz zu sein (ROBBINS und WHITE 1936). In allen diesen Fällen waren sehr schwache Konzentrationen angewendet worden (10^{-11} g/cm^3). Für wesentlich stärkere Konzentrationen zwischen 10^{-3} m und 10^{-5} m konnten später auch bei Maiswurzeln noch deutliche Wirkungen erzielt werden (KANDLER 1950). In neuerer Zeit zeigte SCHEUERMANN (1952), daß verschiedene Vitamine, darunter auch B_1, bei Kombination mit IES einen zum Teil allerdings nur geringen Einfluß auf das Streckungswachstum ausüben.

Als Atmungsgift kam NaF zur Verwendung, da es in seiner Wirkung als Enolasegift schon seit den Arbeiten von LOHMANN und MEYERHOF (1934) gut bekannt und durch WARBURG (1949) auch in seinem Wirkungsmechanismus aufgeklärt ist. Es verdrängt als Mg-Fluorophosphat-Komplex das Mg vom Protein der Enolase und verhindert somit den Übergang von der 2-Phosphoglycerinsäure zur Phosphobrenztraubensäure. Allerdings zeigen in neuerer Zeit die Versuche von BONNER und THIMANN (1950), daß bei der Fluoridhemmung des Wachstums der Avenakoleoptilen auch noch andersartige Hemmwirkungen beteiligt sein müssen, da die Hemmung nicht durch Brenztraubensäure aufgehoben werden kann und durch Zugabe von Phosphat oder Mg nicht beeinflußt wird.

Das Ziel vorliegender Arbeit war, durch Vergleich der stoffwechselphysiologischen Wirkung der angeführten Stoffe auf in vitro kultivierte Maiswurzeln über folgende Punkte etwas aussagen zu können:

1. Muß für die 3 WS ein gleichartiger oder ein verschiedener Wirkungsmechanismus angenommen werden?

2. Handelt es sich bei den beobachteten Veränderungen um unspezifische Folgeerscheinungen der primär durch andere Ursachen bedingten Hemmung des Streckungswachstums oder sind solche Veränderungen die direkte Folge eines unmittelbaren Eingriffes der WS in den Stoffwechsel?

3. Bei welchem Teilprozeß des Stoffwechsels kann gegebenenfalls ein derartiger Eingriff vermutet werden?

B. Material und Methodik.

1. Allgemeines.

Alle Versuche wurden mit in vitro kultivierten Maiswurzeln (Sorte „Badischer Landmais"*) ausgeführt. Die Körner (für eine Versuchsreihe jeweils von einem Kolben) wurden durch 20—50minütiges Einlegen in konz. Bromwasser sterilisiert, mit sterilem Wasser bromfrei gewaschen und in Petrischalen auf etwa 5 mm dicken Agarschichten zur Keimung ausgelegt. Die nach 3 Tagen in der Klimakammer des Instituts bei 27° C ausgekeimten Wurzeln wurden dann unter sterilen Bedingungen auf 5 mm abgeschnitten und je 5 Spitzen in die 10 cm^3 Nährlösung (1000 cm^3 Aqua dest., 360 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 200 mg $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 mg Na_2SO_4, 580 mg KNO_3, 65 mg KCl, 16 mg KH_2PO_4, Spur $Fe_2(SO_4)_3$, 1 cm^3 Hoaglandsche A-Z-Lösung, 10 g Glucose) enthaltenden 50 cm^3 Erlenmeyer-Kölbchen gegeben. Die Kultur erfolgte auf einer Schüttelmaschine in der Klimakammer bei 27° C. Nach den Erfahrungen früherer Arbeiten (Kandler und Vieregg 1952) wurde eine einheitliche Kulturdauer von 5 Tagen gewählt. In diesem Zeitraum weisen das Längenwachstum und die Trockengewicht- und Stickstoffzunahme einen linearen Anstieg auf.

Die thermolabile IES wurde nach dem Sterilisieren der Nährlösung steril zupipettiert, nachdem die entsprechend konzentrierten Stammlösungen mittels Bakterienfilter — Fabrikat der Membranfiltergesellschaft Göttingen — entkeimt worden waren. Alle übrigen Stoffe wurden schon vorher zugesetzt und die beschickten Kulturgefäße erst dann 20 min unter 1 Atm. Druck sterilisiert. Der p_H-Wert der Lösung betrug 5,6. Auf seine Konstanthaltung wurde besonders geachtet, da die 2,4-D in ihrer Wirkung stark p_H-abhängig ist (Audus 1948).

* Für die kostenlose Überlassung des Samenmaterials bin ich der Südwestdeutschen Saatzucht GmbH zu Dank verpflichtet.

Die Aufarbeitung der 5 Tage alten Wurzeln erfolgte nach folgendem Arbeitsgang. Die den Kulturgefäßen entnommenen Wurzeln wurden 30 min in Aqua dest. wiederholt ausgewaschen und in die Atmungströge der Warburg-Apparatur, die mit je 3 cm³ frischer Nährlösung und Zusatz entsprechender WS-Konzentrationen beschickt waren, übertragen. Die Atmungsmessung erfolgte nach der direkten Methode (vgl. DICKENS 1941). Um neben der Bestimmung von Q_{O_2} (mm³ verbrauchter O_2 je Stunde und mg Trockengwicht bzw. Stickstoff) auch RQ messen zu können, wurde in der 1. Std das entstehende CO_2 nicht absorbiert und erst in der 2. Std KOH zupipettiert. Aus der gemessenen Druckdifferenz der 1. (h_1) und 2. (h_2) Std ergibt sich dann $RQ = \frac{(h_2 - h_1) K_{CO_2}}{h_2 \cdot K_{O_2}}$ (K_{CO_2} = Gefäßkonstante für CO_2 bzw. K_{O_2} für O_2); allerdings unter der Voraussetzung, daß der O_2-Verbrauch in den beiden aufeinanderfolgenden Stunden gleich ist. Nach Beendigung der Atmungsmessung wurden die Wurzeln erneut gewaschen, nach Längenmessung in Wägegläschen übertragen und 24 Std bei 105° C getrocknet. Die getrockneten Wurzeln verblieben weitere 24 Std im Exsikkator, wurden dann gewogen und zur Bestimmung des organischen Stickstoffs in die Veraschungskölbchen übertragen. Als Trockengewicht der Wurzeln galt die Gewichtsdifferenz der Wägegläschen nach Entnahme der Wurzeln. Die Stickstoffanalyse erfolgte nach dem Mikro-Kjeldahl-Verfahren, wobei zur Titration n/50 HCl und NaOH verwendet wurden (vgl. KLEIN 1931).

Von der ursprünglichen Nährlösung kamen 0,05 cm³ zur papierchromatographischen Bestimmung der ausgeschiedenen Aminosäuren zur Verwendung. Dabei wurde ebenso verfahren wie kürzlich beschrieben (KANDLER 1951, vgl. CRAMER 1952). Die gesamte übrige Nährlösung, zusammen mit den Wurzel- und Kulturgefäßwaschwässern, wurde zur Bestimmung der noch vorhandenen Glucose nach BERTRAND (vgl. KLEIN 1931) verwendet. Um den Glucoseausgangswert unabhängig von eventuellen Schwankungen zwischen den einzelnen Analysenserien zu erhalten, dienten bei jeder Versuchsreihe 3 Kölbchen mit Nährlösung ohne Wurzeln als Kontrolle. Die Zuverlässigkeit der Glucoseanalysen wurde durch polarimetrische Zuckerbestimmungen noch überprüft. Die Genauigkeit der Bestimmung kann mit ± 1 mg angegeben werden. Bei B_1-Zusatz, der die Bestimmung nach BERTRAND störte, wurde in einigen Fällen ausschließlich mit dem Polarimeter gearbeitet. Die geringen Mengen ausgeschiedener Aminosäuren störten wegen ihres sehr geringen und zum Teil auch entgegengesetzten Drehvermögens die polarimetrische Bestimmung nicht.

Neben den in Erlenmeyer-Kölbchen ausgeführten Kulturen wurden zur Aufstellung einer Gesamtstoffbilanz einige Kulturen direkt in den Atmungströgen der Warburg-Apparatur ausgeführt und während der

gesamten Kulturdauer fortlaufend die Sauerstoffaufnahme gemessen. Dazu kamen die von UMBREIT und Mitarbeitern (1948) beschriebenen Atmungströge für sterile Kulturen zur Verwendung. Sie besitzen unter dem Schliff eine kropfartige Erweiterung, die mit Watte ausgefüllt wird, so daß auch beim Einleiten von Gas keine Infektion erfolgen kann.

Zur anatomischen Untersuchung wurden die Wurzeln mit dem Fixiergemisch nach GILSON fixiert und nach der üblichen Paraffineinbettung mit dem Mikrotom geschnitten. Die Färbung erfolgte mit dem saueren Hämatoxylin nach EHRLICH.

2. Statistische Auswertung und Darstellung der Versuchsergebnisse.

Obwohl bei allen Wurzelkulturen sowohl möglichst einheitliches Samenmaterial, als auch völlig gleiche Nährlösungen und einheitliche Kulturmethoden verwandt wurden, weisen auch die ohne jeden Zusatz gebliebenen Kontrollreihen untereinander beachtliche Schwankungen im Wachstum auf. Diese können nur durch eine größere Zahl von Parallelversuchen ausgeglichen werden. In vorliegender Arbeit wurde stets so verfahren, daß zunächst 3 oder 4 Parallelreihen, bestehend aus je 6—8 Einzelkulturen, angesetzt wurden, die den zu untersuchenden Stoff in Zehnerpotenzen abgestuft enthielten. Nach 3, 5 oder 8 Tagen wurde dann jeweils eine Reihe aufgearbeitet. Daraus ergab sich bereits ein Bild, welche Konzentrationen deutliche Wirkungen hervorriefen und zur näheren Untersuchung geeignet waren. Außerdem zeigte die zeitliche Stufung dieser Vorserie, ob bei der später einheitlichen 5tägigen Kulturdauer wirklich die typische WS-Wirkung erfaßt wird oder ob sich bei kürzerer oder längerer Versuchszeit andere Ergebnisse erzielen ließen. Letzteres war bei den untersuchten Stoffen nicht der Fall.

Eingehender untersucht wurde von jedem Stoff ein Konzentrationsbereich, dessen schwächste Konzentration praktisch noch kontrollengleich war, dessen stärkste dagegen bereits zu einer unspezifischen Hemmung führte. Von allen diesen Konzentrationen wurden in der Regel 6 Parallelreihen im Laufe einiger Wochen bearbeitet und anschließend von den wirksamsten Konzentrationen noch je 5 Parallelen mit entsprechenden Kontrollen zusätzlich ausgeführt.

Damit war so viel Zahlenmaterial gesammelt worden, daß eine statistische Auswertung sinnvoll erschien. Da von den 5 einzelnen Wurzeln jedes Kölbchens immer nur ein gemeinsamer Wert für Trockengewicht, Stickstoffgehalt usw. bestimmt werden konnte, gilt auch bei der Länge immer der Mittelwert der 5 einzelnen Wurzeln als Einzelwert bei der Berechnung der Streuung zwischen den Parallelreihen.

Bei Zahlenmaterial physiologischer Versuchsreihen sind „Ausreißer", die sich von der Masse der übrigen Zahlen deutlich unterscheiden, besonders häufig, da zu der normalen Streuung des Materials unvermeidbar

einmalige Fehlermöglichkeiten treten, wie z. B. ein unbemerkter Verlust eines Teiles der Substanz durch ungeschickte Manipulation. Derartige Werte in den Mittelwert mit einzubeziehen, wäre fehlerhaft, da sie nicht zur gleichen statistischen Masse gehören wie die anderen. Daher wurde zunächst mittels des bereits kürzlich (KANDLER und VIEREGG 1952) verwandten graphischen Verfahrens zum Ausgleich wiederholter Messungen nach LODE (1948) eine Homogenitätsprüfung ausgeführt. Damit konnten alle nicht der Zufallsstreuung entsprechenden Werte ausgeschieden werden, und der Rest diente dann als Grundlage für die Berechnung des Mittelwertes, der Streuung der Einzelwerte (σ), der Streuung des Mittelwertes $\left(m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)$, sowie der Streuung der Differenz zwischen der Kontrolle und den verschiedenen WS-Konzentrationen $\left(\sigma_D = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}\right)$. In vorliegender Arbeit sind alle Mittelwerte der direkt bestimmten Faktoren (Länge, Trockengewicht, Stickstoffgehalt, Glucoseverbrauch, Sauerstoffverbrauch und RQ) zusammen mit den nötigen statistischen Daten in Tabellen angeordnet, die außerdem in der letzten Spalte noch die Angabe für die statistische Sicherung der Differenzen enthalten. Die Berechnung der Wahrscheinlichkeit einer Differenz wäre für das umfangreiche Material zu zeitraubend und es erschien ausreichend, nur die Grenzwerte für 99%, 95%, 90% usw. zu berechnen und den jeweils überschrittenen Wert als Minimumwert in die Tabellen einzutragen. Die Berechnung erfolgte nach dem t-Test (vgl. WEBER 1948). Im Text wird für eine Wahrscheinlichkeit von mindestens 99% der Ausdruck „gut gesichert", für 95% „gesichert" und für 90% „beinahe gesichert" gebraucht.

Bei der Durchsicht der Tabellen fällt auf, daß die Streuung bei den Kontrollen und den schwachen Konzentrationen wesentlich größer ist, als bei den starken Konzentrationen. Doch ließen sich in allen Fällen die Differenzen zwischen den Kontrollen und den wirksamsten Konzentrationen gut sichern. Vergleicht man die Kontrollen der verschiedenen Versuchsserien, so bemerkt man, daß sie zum Teil erheblich abweichen, und es entsteht die Frage, ob man nicht alle Kontrollreihen der innerhalb eines Jahres ausgeführten gesamten Versuchsserien mitteln und die einzelnen WS-Konzentrationen mit diesem Gesamtmittel vergleichen müßte. Dies erscheint jedoch nicht berechtigt, denn die Differenzen zwischen den verschiedenen Kontrollen sind zum Teil gut gesichert. Es ist bei den Wurzelkulturen ebenso wie bei vielen anderen Wachstumstesten, daß manchmal generell bei allen gleichzeitig angesetzten Reihen eine Erhöhung oder Erniedrigung der Zuwachswerte erfolgt, ohne daß irgendeine Ursache erkennbar wäre. Im Falle der Wurzelkulturen kann man bei der Suche nach der Ursache der Schwankungen zunächst an das verschiedene Alter der Maiskörner denken. Bei den

im August-September 1951 ausgeführten Versuchen mit 2,4-D kamen z. B. Maiskörner der Ernte 1950 zur Verwendung, während die im November für die Versuche mit NES verwandten Körner der Ernte 1951 angehörten und erst 3 Monate alt waren. Bei den Versuchen mit B_1 im Juni 1952 waren diese Körner der Ernte 1951 bereits über 9 Monate alt. Außerdem kann die stets vorhandene Verunreinigung der Glucosepräparate je nach Herstellung schwanken, was auch von den übrigen Chemikalien gilt. Weiterhin ist an die Reinheit der Aqua dest. und der Kulturgefäße zu denken, die trotz großer Sorgfalt immer gewissen Schwankungen unterworfen ist. In diesem Zusammenhang sei auf eine Arbeit von Boll und Street (1951) verwiesen, die je nach Herkunft des destillierten Wassers erstaunliche Wachstumsunterschiede bei isolierten Tomatenwurzeln beobachteten. Jedenfalls liefern gleichzeitig oder kurz nacheinander ausgeführte Versuchsreihen stets einheitlichere Werte als zeitlich weit auseinanderliegende. Die unmittelbar mitgeführte Kontrolle erscheint daher als die einzige berechtigte Bezugsgröße.

Um eine übersichtliche Darstellung der in den Tabellen niedergelegten Ergebnisse zu erzielen, wurden alle Zuwachswerte — nicht die in den Tabellen angegebenen Endwerte — in % der Kontrolle in zusammenfassenden Kurvenbildern dargestellt. Dabei enthält die Abbildung a jeweils die unmittelbar gemessenen Werte (Länge, Trockengewicht, Stickstoffgehalt und Sauerstoffverbrauch), die Abbildung b die Quotienten (RQ L/Tr., Δ N/Δ Tr., SW). In den Tabellen sind die Werte für Länge stets in mm, für Trockengewicht und Glucose in mg und für Stickstoff in γ angegeben.

3. Berechnung des synthetischen Wirkungsgrades.

Unter synthetischem Wirkungsgrad (SW) wird in vorliegender Arbeit das Verhältnis „assimilierte Glucose/veratmete Glucose" verstanden, wie vor kurzem eingehender begründet (Kandler 1953). Die Berechnung erfolgte nach folgendem Schema. Das tatsächlich gefundene Endtrockengewicht wird um folgende Beträge vermindert: 1. Ausgangstrockengewicht von 5 Wurzelspitzen (2,5 mg); 2. aus anorganischem Nitrat reduzierter Stickstoff (Endstickstoff — Ausgangsstickstoff = 150 γ); 3. Aschenbestandteile (5% des Trockengewichts). Zu dem so erhaltenen Betrag müssen noch das Trockengewicht der in der Nährlösung suspendierten, abgeschilferten Wurzelhaubenzellen und die ausgeschiedenen Aminosäuren hinzuaddiert werden (etwa 0,6 mg), da sie ebenfalls aus der Glucose der Nährlösung aufgebaut wurden. Bei den Proben mit starken WS-Konzentrationen, bei denen sich in der Nährlösung keine Aminosäuren nachweisen ließen, wurde nur ein Betrag von 0,2 mg für die abgeschilferten Wurzelhaubenzellen eingesetzt. Die damit erhaltene Zahl gibt die Menge an Substanz an, die nur aus Glucose

aufgebaut worden sein kann. Man erhält aus ihr die assimilierte Glucose, wenn man sie noch um 10% vermehrt, denn beim Aufbau sowohl der Polysaccharide als auch des Eiweißes aus deren Bestandteilen tritt je Mol Ausgangsmaterial 1 Mol Wasser aus, was einer Gewichtsabnahme von etwa 10% entspricht. Diese assimilierte Glucose von dem Gesamtglucoseverbrauch subtrahiert ergibt die veratmete Glucose, und der Quotient aus beiden wird als SW bezeichnet. Er sagt aus, wieviel Mol Glucose je Mol zu CO_2 und Wasser abgebauter Glucose zu körpereigener Substanz assimiliert worden sind.

Ganz entsprechend läßt sich diese Berechnung auch auf die direkt in den Atmungströgen kultivierten Maiswurzeln anwenden. In diesem Falle kommt aber noch die Möglichkeit hinzu, aus dem Sauerstoffverbrauch und dem RQ-Wert die veratmete Glucose zu bestimmen und es ergeben sich damit 3 verschiedene Arten der Berechnung des SW. Stimmen sie überein, so kann die Stoffbilanz und damit auch der errechnete SW als gesichert angesehen werden. Die Einzelwerte für die Gesamtbilanz sind jeweils in Tabellen zusammengefaßt.

C. Versuchsergebnisse.

1. Versuche mit 2,4-D.

a) Längenwachstum und anatomisch-morphologische Merkmale. Geprüft wurde ein Konzentrationsbereich von 10^{-11} m bis 10^{-4} m. Schwächere Konzentrationen als 10^{-8} m ergaben gegenüber der Kontrolle keine Unterschiede, während mit zunehmender Konzentration immer stärkere Hemmung des Längenwachstums eintrat. Bei 10^{-4} m waren die Wurzeln nicht mehr voll turgeszent und starben bei längerer Kulturdauer ab. Eingehender untersucht wurde daher nur ein Konzentrationsbereich von 10^{-8} m bis 10^{-5} m. Wie Tabelle 1 zeigt, sind die durch die 3 stärksten Konzentrationen verursachten Differenzen gegenüber der Kontrolle gut gesichert.

Mit der zunehmenden Hemmung des Längenwachstums geht auch eine starke morphologische Deformation der Wurzeln einher. Sie erscheinen aufgetrieben und durch das lockere Rindenparenchym schim-

Tabelle 1. *Gesamtlänge der Maiswurzeln bei Kultur mit verschiedenen 2,4-D-Konzentrationen.*

Konzentration	n	$\bar{l}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	13	37,2	7,9	2,2	—	—	—
10^{-9}	5	35,6	6,4	2,8	—	− 1,6	—
10^{-8}	10	37,8	3,0	0,97	—	+ 0,6	—
10^{-7}	8	27,0	4,1	1,47	2,64	− 10,2	99
10^{-6}	12	13,0	0,28	0,08	2,2	− 24,2	99
10^{-5}	19	12,0	1,73	0,40	2,3	− 25,2	99

mert häufig der Zentralzylinder durch (Abb. 1). Nebenwurzeln kommen praktisch nie zur vollen Ausbildung. Diese Deformationen bleiben auch bei mehrwöchiger Kulturdauer erhalten und es tritt nicht, wie bei IES, eine allmähliche „Gewöhnung" ein. Bemerkenswert ist vielleicht auch, daß die Schleimabsonderung, wie sie auch die normalen Wurzeln aufweisen, stark gefördert ist. An den Wänden der Kulturgefäße setzt

Abb. 1. Bei Zusatz von 2,4-D kultivierte Maiswurzeln. Von links nach rechts: Kontrolle, 10^{-5} m, 10^{-4} m, 10^{-3} m, 10^{-2} m.

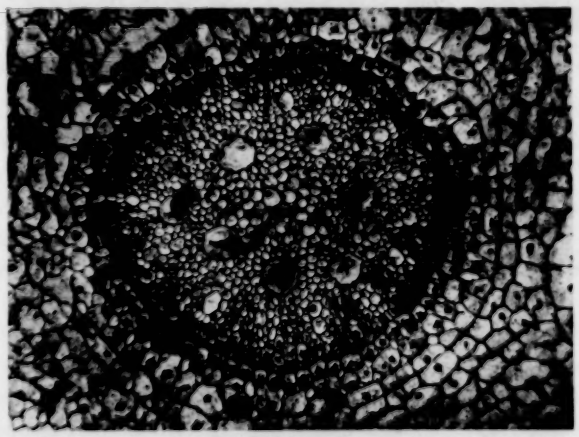


Abb. 2. Querschnitt durch die Spitze einer bei Zusatz von 10^{-5} m 2,4-D 5 Tage kultivierten Maiswurzel.

sich regelmäßig über dem Rand der Nährlösung ein Ring aus Schleim und abgeschilferten Zellen fest.

Der Querschnitt läßt eine außerordentlich starke Auflockerung des Rindenparenchyms erkennen. Die Zellen sind blasig aufgetrieben und weisen nur noch einen sehr schwachen Zusammenhang auf. Es ist daher sogar bei fixiertem Material unmöglich, einen vollständigen Schnitt zu erhalten. Bereits unmittelbar hinter dem Vegetationspunkt, wo gerade eine Differenzierung in Rinde und Zentralzylinder deutlich erkennbar wird, beginnt der Perizykel mit der Ausbildung eines geschlossenen Kambiumringes. In Abb. 2 sind die periklinen Teilungen in den dunkel erscheinenden, stärker angefärbten Zellen bereits erkennbar.

Etwa 0,3 mm weiter vom Vegetationspunkt entfernt weist dieses „Kambium" bereits 5—6 Zellschichten auf, und die Endodermis besteht nur aus einer Schicht blasiger Zellen, die vielfach in Teilung begriffen

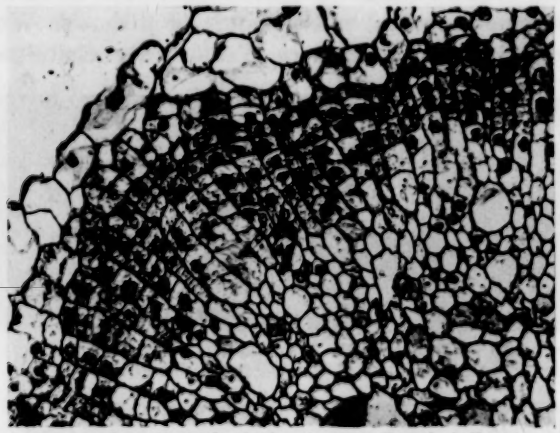


Abb. 3. Ausschnitt aus dem Zentralzylinder einer 5 Tage bei Zusatz von 10^{-5} m 2,4-D kultivierten Maiswurzel. (Etwa 0,5 mm vom Vegetationspunkt entfernt.)

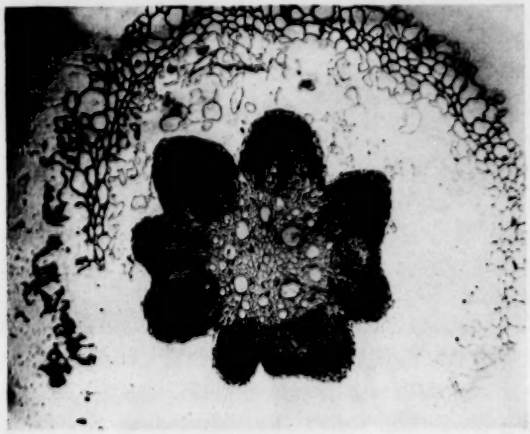


Abb. 4. Querschnitt durch den Zentralzylinder einer bei Zusatz von 10^{-5} m 2,4-D kultivierten Maiswurzel mit Resten des Rindenparenchyms. (Etwa 5 mm vom Vegetationspunkt entfernt.)

sind. Dabei treten neben den normalen antiklinen auch für die Endodermis ungewöhnliche perikline Teilungsschritte auf (Abb. 3).

In den älteren Teilen der Wurzel bildeten sich dann aus diesem Kambium zahlreiche Wurzelanlagen, die häufig zu Rosetten zusammengedrängt erschienen, aber nicht weiter zur Entwicklung gelangten. Allgemein kann man die Kambiumbildung des Perizykels als eine extrem gesteigerte Anregung der Nebenwurzelbildung auffassen. Nor-

Tabelle 2. *Trockengewicht von je 5, bei Zusatz verschiedener 2,4-D-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Trockengewicht	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	13	11,4	4,5	1,25	—	—	—
10^{-9}	5	13,2	4,4	2,2	—	+1,8	—
10^{-8}	10	11,1	5,3	1,68	—	−0,3	—
10^{-7}	8	15,4	8,3	2,9	3,15	+4,0	75
10^{-6}	12	15,6	3,4	0,98	1,58	+4,2	95
10^{-5}	19	9,0	2,4	0,65	1,4	−2,4	90

Tabelle 3. *Stickstoffgehalt von je 5, bei Zusatz verschiedener 2,4-D-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	N	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	7	352	87,7	33,5	—	—	—
10^{-8}	7	352	120	45	—	—	—
10^{-7}	5	346	116	52	—	− 6	—
10^{-6}	9	340	41,2	13,7	—	− 12	—
10^{-5}	11	280	34,6	10,7	34,8	− 72	90

malerweise bleiben zwischen den einzelnen Anlagen größere Partien des Zentralzylinders unverändert, während bei der Einwirkung von 2,4-D die Anlagen zu einem Ring verschmelzen (Abb. 4). Es handelt sich also nur um einen, wenn auch sehr auffälligen, quantitativen Unterschied gegenüber dem normalen Verhalten. Diese Effekte traten bei 10^{-6} m wesentlich schwächer, aber noch erkennbar, bei 10^{-7} m nicht mehr auf.

b) Trockengewicht und Stickstoffgehalt. Schwächere Konzentrationen als 10^{-8} m blieben auch auf Trockengewicht und Stickstoffgehalt ohne Einfluß. Dagegen verursachten die das Längenwachstum hemmenden Konzentrationen 10^{-7} m und 10^{-6} m eine starke, gesicherte Zunahme des Trockengewichts (Tabelle 2). 10^{-5} m führte bereits wieder zu einer Abnahme desselben. Längenwachstum und Substanzvermehrung gehen also nicht parallel. Dies drückt am anschaulichsten der Quotient Länge/Trockengewicht aus, der vor kurzem (KANDLER 1953) als „spezifische Länge" bezeichnet wurde. Die spezifische Länge kann bis zu einem gewissen Grade als Maßstab für die Differenzierung gewertet werden. Zur Berechnung der in Tabelle 6 zusammengestellten Werte ist noch zu bemerken, daß die Zahlen für das Trockengewicht aus Tabelle 2 noch durch 5 dividiert werden müssen, da sie das Gesamttrockengewicht von je 5 Wurzeln darstellen, während die Zahlen in Tabelle 1 die Durchschnittslänge einer Wurzel angeben.

Beinahe unbeeinflußt bleibt der Stickstoffeinbau, wie aus Tabelle 3 hervorgeht. Nur bei 10^{-5} m ergibt sich auch hier eine Hemmung.

Tabelle 4. *Atmungsintensität von Maiswurzeln nach 5tägiger Kultur unter 2,4-D-Zusatz.*

Konzentration	n	Tr. $Q_{O_2}^L$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	10	3,1	0,58	0,18	—	—	—
10^{-8}	6	2,9	0,50	0,21	—	0,2	—
10^{-7}	10	3,0	0,81	0,25	—	0,1	—
10^{-6}	10	3,6	0,66	0,21	0,27	0,5	90
10^{-5}	10	5,0	0,84	0,26	0,31	1,9	99

Tabelle 5. *RQ von Maiswurzeln nach 5tägiger Kultur unter 2,4-D-Zusatz.*

Konzentration	n	RQ	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	10	1,18	0,17	0,054	—	—	—
10^{-8}	6	1,18	0,057	0,024	—	—	—
10^{-7}	10	1,24	0,094	0,030	0,058	+0,06	70
10^{-6}	10	1,30	0,042	0,013	0,05	+0,12	95
10^{-5}	10	1,30	0,14	0,044	0,07	+0,12	90

Daraus resultiert eine starke Verschiebung des Verhältnisses Eiweißaufbau/Kohlenhydrataufbau zugunsten des letzteren, was der Quotient $\Delta N/\Delta$ Tr. veranschaulicht (Tabelle 6).

Die papierchromatographische Untersuchung der Nährlösung auf ausgeschiedene Aminosäuren verlief für die höheren Konzentrationen negativ. Nur bei schwächeren Konzentrationen als 10^{-7} m konnten wie bei den Kontrollen Alanin, Glutamin, Serin, Asparagin- und Glutaminsäure sowie Spuren von Leucin, Valin und Asparagin gefunden werden.

c) Atmung und synthetischer Wirkungsgrad. Bei Kurzversuchen konnte kein wesentlicher Einfluß von 2,4-D auf die Atmung isolierter Wurzelspitzen gefunden werden. Nur 10^{-4} m verursachte eine erkennbare Atmungshemmung. Im Laufe der Kultur ergibt sich dagegen eine gut gesicherte Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs für die beiden höchsten Konzentrationen (Tabelle 4). Bezieht man den Sauerstoffverbrauch nicht auf Trockengewicht, sondern auf Stickstoff, so wird die Erhöhung noch deutlicher (Tabelle 6).

Der RQ erfährt durch 2,4-D nur eine leichte Erhöhung bei hohen Konzentrationen (Tabelle 5).

Von einigen in die Tabellen 2 und 3 einbezogenen Proben fielen die Glucoseanalysen aus. Daher wurden zur Berechnung des SW nicht die Durchschnittswerte der übrigen Glucoseanalysen herangezogen, sondern von allen Proben einzeln der SW errechnet und die erhaltenen Werte gemittelt (Tabelle 7).

Eine gut gesicherte Verbesserung des SW ergab sich nur bei 10^{-7} m, während 10^{-6} m schon zu einer Verminderung führte, obwohl die Trockengewichtszunahme bei dieser Konzentration noch erheblich über dem Kontrollwert liegt. Die starke Anregung des gesamten Stoffumsatzes, wie sie auch durch die erhebliche Atmungssteigerung zum Ausdruck kommt, ist in diesem Konzentrationsbereich offensichtlich so groß, daß es trotz verschlechterter Ausnützung noch zu einer absoluten Erhöhung des Stoffeinbaues kommt. Dieses Verhalten erinnert stark an das von α-Dinitrophenol (KANDLER 1950), das nach LYNEN und KÖNIGSBERGER (1950) die Atmungskettenphosphorylierung entkoppelt. Auch hier kommt es zu einer relativen Verringerung des Einbaues, obwohl unter bestimmten Bedingungen noch eine Erhöhung der Absolutwerte beobachtet werden kann.

Tabelle 6. *Aus den Tabellen 1 und 4 errechnete Quotienten.*

2,4-D	l/Tr.	$\Delta N/\Delta Tr.$	${}_N Q^L_{O_2}$
K	16,1	22,6	101
10^{-9}	14,5	—	—
10^{-8}	17,1	23,8	92
10^{-7}	8,7	15,2	130
10^{-6}	4,2	14,6	165
10^{-5}	6,7	20,0	160

Eine Übersicht über eine Gesamtstoffbilanz bei Zusatz von 10^{-7} m und 10^{-5} m 2,4-D, wobei sich in der Gasphase der Atmungströge Sauerstoff befand, gibt die Tabelle 8. Dabei stellen die einzelnen Daten Mittelwerte aus je 2 Parallelversuchen dar. Alle 6 Versuche wurden gleichzeitig in einer Serie ausgeführt. Wie kürzlich (KANDLER 1952b) näher beschrieben, ergibt die Kultur in den Atmungströgen stets höhere

Tabelle 7. *SW von Maiswurzeln unter dem Einfluß von 2,4-D.*

Konzentration	n	SW	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	10	1,15	0,3	0,09	—	—	—
10^{-8}	10	1,2	0,4	0,13	—	+0,05	—
10^{-7}	10	1,6	0,47	0,15	0,10	+0,45	99
10^{-6}	13	1,04	0,21	0,06	0,09	−0,11	70
10^{-5}	14	0,5	0,17	0,046	0,09	−0,65	99

Tabelle. 8. *Gesamtstoffbilanz bei Zusatz von 2,4-D (Gasphase O_2).*

	Δ Trockengewicht	Δ N	Ausscheidung	Assimilierte Glucose	Δ Glucose	O_2	RQ	Veratmete Glucose	SW Trockenglucose	SW Trocken-O_2	SW Glucose-O_2	$\overline{SW}$
K	10,0	200	0,6	10,9	19,0	5250	1,1	7,7	1,35	1,41	1,48	1,41
2,4-D 10^{-7}	12,6	300	0,6	13,5	20,7	4650	1,2	7,4	1,87	1,82	1,82	1,84
2,4-D 10^{-5}	6,7	150	0,2	7,06	16,4	5100	1,3	8,85	0,76	0,80	0,85	0,80

Werte für den SW als die Kultur in den Erlenmeyer-Kölbchen. Bei Verwendung von Luft in der Gasphase ergibt sich für die Kontrollen ein Wert gegen 2,0, bei Sauerstoff ein solcher von 1,4. In dem hier angeführten Beispiel ist nur der Vergleich zwischen der Kontrolle und den 2,4-D-Zusätzen von Interesse. Es geht klar hervor, daß auch unter diesen Bedingungen 10^{-7} m zu einer Verbesserung, 10^{-5} m dagegen

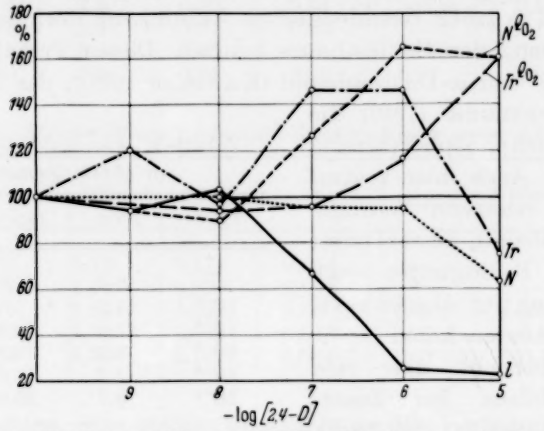


Abb. 5a. Längen-, Trockengewichts- und Stickstoffzunahme sowie Q_{O_2} in Prozent der Kontrolle dargestellt.

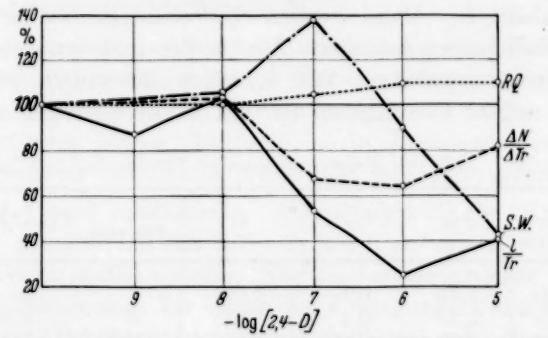


Abb. 5b. Spezifische Länge, Δ N/Δ Tr., R Q und SW in Prozent der Kontrolle.

zu einer Verschlechterung des SW führt. Vier weitere Parallelproben lieferten das gleiche Ergebnis.

d) Zusammenfassende Darstellung der 2,4-D-Wirkung. Die Abb. 5a und b zeigen die kurvenmäßige Darstellung der in obigen Tabellen vorgelegten Daten; jeweils in Prozent der Kontrolle ausgedrückt. Bei allen Kurven, mit Ausnahme der für den SW, tritt bei 10^{-6} m ein deutlicher Knick auf, den man als Übergang in den Bereich der unspezifischen Hemmung deuten kann. Der auffallend hohe Wert für die Trockengewichtszunahme bei 10^{-9} m liegt, wie die Tabelle 2 zeigt, noch im Bereich der Zufallsschwankung.

2. Versuche mit α-Naphthylessigsäure.

a) Längenwachstum und anatomisch-morphologische Merkmale. Aus dem ursprünglich überprüften Konzentrationsbereich von 10^{-12} m bis 10^{-4} m wurden die Konzentrationen von 10^{-9}m bis 10^{-5} m eingehender untersucht. Eine Versuchsserie mit 5 Parallelreihen lieferte besonders einheitliche Werte, so daß für die folgenden Tabellen nur diese Daten verwendet wurden. Nur für die Atmung wurden auch die beiden anderen Versuchsserien mit je 2 bzw. 3 Parallelen herangezogen. Für Länge, Trockengewicht und Stickstoff hatten diese übereinstimmend niedrigere Werte ergeben als die 1. Versuchsserie und durften daher nicht in den gleichen Mittelwert miteinbezogen werden. Auf die jeweiligen Kontrollen bezogen lieferten sie allerdings die gleichen Ergebnisse, wie die hier angeführte Reihe.

Eine das Längenwachstum fördernde Konzentration konnte nicht ermittelt werden. Von 10^{-7} m ab wirkte NES ebenso wie 2,4-D hemmend, und auch in diesem Falle ging diese Hemmung selbst nach wochenlanger Kultur nicht mehr zurück. Die Nebenwurzeln kamen nur bei 10^{-6} m gelegentlich noch so weit zur Ausbildung, daß sie das Rindenparenchym durchstoßen konnten. Bei 10^{-5} m traten sie nie äußerlich in Erscheinung (Tabelle 9).

Tabelle 9. *Gesamtlänge der Maiswurzeln nach 5tägiger Kultur mit verschiedenen NES-Konzentrationen.*

Konzentration	n	$\bar{l}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	34,6	2,94	1,3	—	—	—
10^{-9}	5	33,8	4,2	1,9	—	— 0,8	—
10^{-8}	5	32,4	2,9	1,27	—	— 2,2	—
10^{-7}	5	23,0	4,4	2,0	2,39	— 11,6	99
10^{-6}	5	16,0	2,9	1,27	1,82	— 18,6	99
10^{-5}	5	12,5	1,95	0,89	1,58	— 22,1	99

Wie bei 2,4-D erlitten die im Längenwachstum gehemmten Wurzeln starke Deformationen (Abb. 6). Das Rindenparenchym bestand auch hier aus blasigen, voneinander beinahe getrennten Zellen, die im Querschnitt nicht mehr in ihrer normalen Lage erhalten werden konnten. Nur die Randpartien hielten noch fester zusammen und gaben der Wurzel ihre Form. Der Zentralzylinder wies keine derartigen Veränderungen auf wie bei 2,4-D. Die Nebenwurzelanlagen nahmen allerdings einen breiteren Raum ein als bei normalen Wurzeln, was als Übergang zur 2,4-D-Wirkung aufgefaßt werden kann (Abb. 7).

b) Trockengewicht und Stickstoffgehalt. Auch NES führt in Konzentrationen von 10^{-7} m und 10^{-6} m zu vermehrter Substanzeinlagerung, was aber bei den in Tabelle 10 enthaltenen Werten nicht statistisch

gesichert werden konnte. In anderen Versuchsreihen, wie z. B. in den in Tabelle 17 dargestellten Versuchen, ergeben sich jedoch größere Differenzen, so daß die angeführte Trockengewichtszunahme durchaus

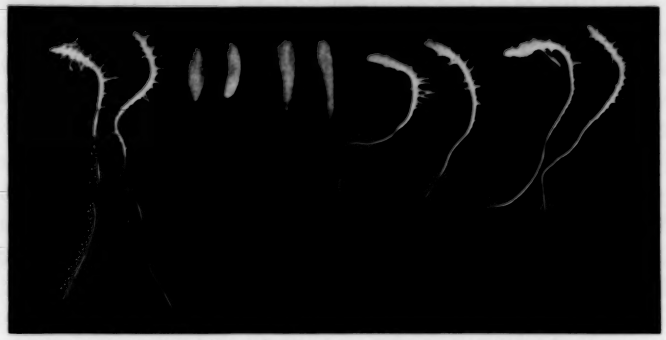


Abb. 6. Bei Zusatz von NES kultivierte Maiswurzeln. Von links nach rechts: Kontrolle 10^{-5} m, 10^{-6} m, 10^{-7} m, 10^{-8} m.

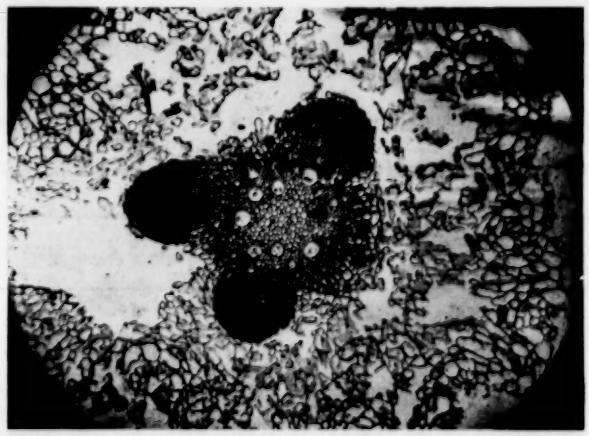


Abb. 7. Querschnitt durch eine bei 10^{-5} m NES-Zusatz kultivierte Wurzel.

als reell angesehen werden darf. Für die spezifische Länge ergibt sich ein entsprechendes Verhalten wie bei 2,4-D (Tabelle 15).

Tabelle 10. *Trockengewicht von je 5, bei Zusatz verschiedener NES-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Trockengewicht	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	15,0	3,2	1,4	—	—	—
10^{-9}	5	15,5	4,7	2,15	—	+0,5	—
10^{-8}	5	15,4	4,7	2,15	—	+0,4	—
10^{-7}	5	17,5	3,2	1,4	1,85	+2,5	70
10^{-6}	5	17,5	5,4	2,4	2,78	+2,5	—
10^{-5}	5	10,5	1,5	0,7	1,56	−4,5	95

Geringe Veränderungen weist der Stickstoffgehalt auf. Nur 10^{-5} m führt zu einer gesicherten Abnahme. Dementsprechend verschiebt sich auch hier der Quotient $\Delta N/\Delta$ Tr. stark zugunsten des Kohlenhydrateinbaues. Die Ausscheidung von Aminosäuren unterblieb bei 10^{-5} m und 10^{-6} m vollständig. Bei 10^{-7} m war sie praktisch gleich wie bei den Kontrollen. Eine verstärkte Ausscheidung von Aminosäuren läßt sich bei Verwendung sehr extremer Konzentrationen über 10^{-4} m erreichen. Es handelt sich dabei allerdings schon um starke Schädigung der Zellen, die auch ihre Turgeszenz verlieren und allmählich absterben. Das gleiche gilt auch für 2,4-D und kann nicht mehr als spezifische Wirkung der WS angesehen werden.

Tabelle 11. *Stickstoffgehalt von je 5, bei Zusatz verschiedener NES-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	N	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	450	117	53	—	—	—
10^{-9}	5	460	151	69	—	− 10	—
10^{-8}	5	430	139	63	—	− 20	—
10^{-7}	5	460	88	40	—	+ 10	—
10^{-6}	5	395	154	70	86	− 55	—
10^{-5}	5	310	66	30	58	−140	95

c) Atmung, Glucoseverbrauch und synthetischer Wirkungsgrad. Auch NES rief in Kurzversuchen keine wesentliche Veränderung im Sauerstoffverbrauch von Maiswurzelspitzen hervor. Wiederum führten nur die extremen Konzentrationen von 10^{-4} m und stärker zu einer Hemmung. Die nach Beendigung der Kultur ausgeführten Atmungsmessungen ergaben, wenn man das Trockengewicht als Bezugsgröße wählte, nur für 10^{-5} m eine beinahe gesicherte Erhöhung, während alle anderen Konzentrationen keine Differenzen hervorriefen (Tabelle 12). Bezieht man dagegen den Sauerstoffverbrauch auf Stickstoff, so ergibt sich auch für NES eine deutliche Atmungssteigerung (Tabelle 15).

Tabelle 12. *Atmungsintensität von Maiswurzeln nach 5tägiger Kultur unter NES-Zusatz.*

Konzentration	n	Tr. $Q^{L}_{O_2}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung. %
K	10	3,15	0,55	0,18	—	—	—
10^{-9}	9	3,25	0,36	0,12	—	0,1	—
10^{-8}	8	3,27	0,28	0,1	—	0,12	—
10^{-7}	13	3,25	0,52	0,14	—	0,1	—
10^{-6}	9	3,17	0,6	0,2	—	0,08	—
10^{-5}	12	3,55	0,39	0,11	0,21	0,4	90

Im Gegensatz zu 2,4-D steigt bei höheren NES-Konzentrationen der RQ-Wert erheblich an, wie aus Tabelle 13 hervorgeht.

Für den Glucoseverbrauch ergibt sich ein gesicherter Anstieg bei 10^{-6} m (Tabelle 14). Die Berechnung des SW (Tabelle 15) zeigt jedoch keine Verbesserung der Syntheseleistung durch NES-Zusatz. Die leichte Erhöhung bei 10^{-7} m könnte analog den Verhältnissen bei 2,4-D reell sein, ist aber statistisch auf keinen Fall zu sichern. Dagegen ist die Verringerung des SW bei den starken Konzentrationen gesichert.

Tabelle 13. *RQ von Maiswurzeln nach Kultur unter NES-Zusatz.*

Konzentration	n	RQ	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	11	1,14	0,06	0,019	—	—	—
10^{-9}	9	1,16	0,07	0,024	—	+0,02	—
10^{-8}	9	1,21	0,078	0,026	0,032	+0,07	95
10^{-7}	13	1,15	0,072	0,02	—	+0,01	—
10^{-6}	9	1,37	0,086	0,028	0,034	+0,23	99
10^{-5}	13	1,54	0,2	0,055	0,058	+0,4	99

Tabelle 14. *Glucoseverbrauch von je 5, bei verschiedenen NES-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Glucose	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	24,1	4,9	2,2	—	—	—
10^{-9}	5	24,8	6,5	2,9	—	+0,7	—
10^{-8}	5	24,5	6,1	2,75	—	+0,4	—
10^{-7}	5	27,5	7,1	3,2	—	+3,4	—
10^{-6}	5	32,0	5,3	2,38	3,2	+7,9	95
10^{-5}	5	19,9	4,3	1,92	2,9	−4,2	80

Tabelle 15. *Quotienten aus den Tabellen 9—14.*

NES	SW	l/Tr.	ΔN/Δ Tr.	$_{N}Q^{L}_{O_2}$	NES	SW	l/Tr.	ΔN/Δ Tr.	$_{N}Q_{O_2}$
K	1,25	11,5	24,0	104	10^{-7}	1,35	6,6	20,5	123
10^{-9}	1,30	10,8	23,8	109	10^{-6}	0,95	4,6	16,0	140
10^{-8}	1,25	10,5	21,5	117	10^{-5}	0,73	6,0	20,0	120

Tabelle 16. *Gesamtstoffbilanz bei Zusatz von NES (Gasphase O_2).*

	Δ Trokkengewicht	Δ N	Ausscheidung	Assimilierte Glucose	Δ Glucose	$-O_2$	RQ	Veratmete Glucose	SW Trockenglucose	SW Trocken-O_2	SW Glucose-O_2	SW
NES 10^{-5}	4,0	100	0,2	4,3	9,0	2000	1,5	4,0	0,91	1,07	1,24	1,07
NES 10^{-7}	5,5	150	0,6	6,3	11,5	3370	1,1	5,0	1,21	1,26	1,30	1,26

Wie bei 2,4-D wird der Gesamtstoffumsatz gesteigert (vermehrter Glucoseverbrauch bei 10^{-6} m!), der Nutzeffekt aber verringert.

Zur Überprüfung der Richtigkeit der Berechnung des SW bei den in Erlenmeyer-Kölbchen ausgeführten Kulturen wurden wiederum 2 Parallelreihen in den Atmungströgen der Warburg-Apparatur kultiviert. In der Gasphase befand sich Sauerstoff. Als Kontrollwerte für die in Tabelle 16 enthaltenen Daten gilt die Kontrolle in Tabelle 32,

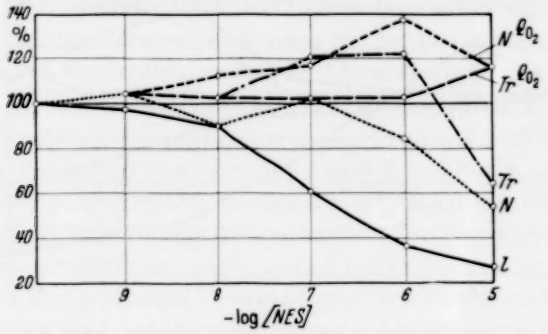


Abb. 8a. Längen-, Trockengewichts- und Stickstoffzunahme sowie Q_{O_2} in Prozent der Kontrolle.

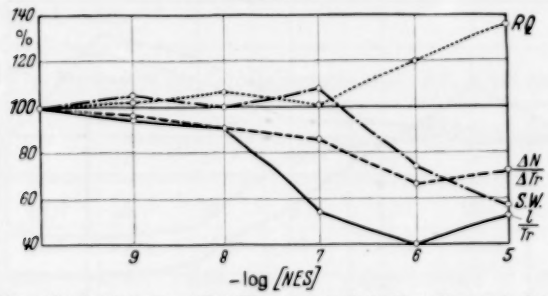


Abb. 8b. Spezifische Länge, $\Delta N/\Delta$ Tr., RQ und SW in Prozent der Kontrolle.

da die Versuche mit B_1 gleichzeitig ausgeführt wurden. Es ergab sich auch dabei für 10^{-5} m eine Verminderung des SW.

d) Zusammenfassende Darstellung der NES-Wirkung. Das in Abb. 8a und b dargestellte Gesamtbild der NES-Wirkung ist dem von 2,4-D im Prinzip sehr ähnlich, doch verlaufen die einzelnen Kurven flacher. Stärkere Unterschiede bestehen nur beim SW und beim RQ. Fast alle Kurven weisen bei 10^{-6} m einen Knick auf und zeigen damit das Einsetzen einer unspezifischen Hemmung an.

3. Gleichzeitige Versuche mit IES, NES und 2,4-D.

a) Zusammenfassende Darstellung der IES-Wirkung. Die bisher mitgeteilten Wirkungen der NES und 2,4-D erinnern stark an die kürzlich (KANDLER und VIEREGG 1952) mit gleicher Methodik

gewonnenen Ergebnisse bei Verwendung von IES. Um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu schaffen, wurde aus den bereits damals veröffentlichten Daten eine der obigen Darstellung der NES- und 2,4-D-Wirkung entsprechende Zusammenfassung der einzelnen Kurven vorgenommen (Abb. 9a und b).

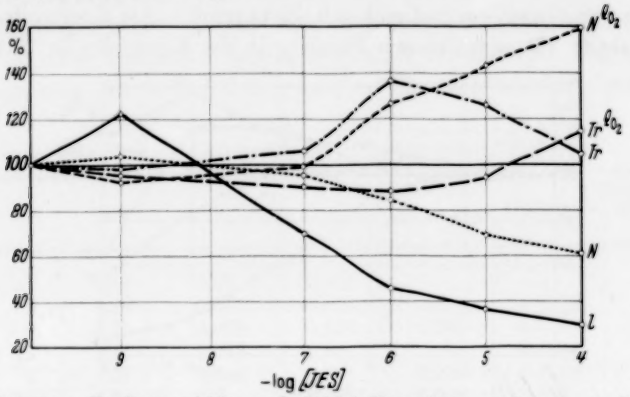


Abb. 9a. Längen-, Trockengewichts- und Stickstoffzunahme sowie Q_{O_2} in Prozent der Kontrolle.

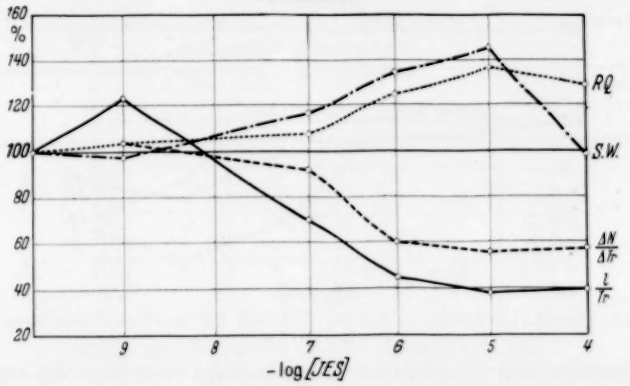


Abb. 9b. Spezifische Länge, $\Delta N/\Delta$ Tr., RQ und SW in Prozent der Kontrolle.

Grundsätzlich gleichen sich die zusammenfassenden Darstellungen der 3 WS sehr stark, doch verlaufen bei der IES die Kurven über größere Konzentrationsbereiche hin stetiger. Der bei den beiden anderen WS sehr deutliche Übergang in die unspezifische Hemmung bei 10^{-6} m ist bei IES weniger ausgeprägt und liegt erst bei 10^{-5} m. Am augenscheinlichsten ist der Unterschied im SW, der bei IES selbst durch die extreme Konzentration von 10^{-4} m noch nicht unter den Wert der Kontrolle gesenkt wird. Außerdem erfolgt bei 10^{-9} m eine leichte Förderung des Längenwachstums, die allerdings nur schwer statistisch zu sichern ist. Auf einen weiteren Vergleich der 3 WS wird in der Diskussion eingegangen werden.

b) Parallelversuche mit IES, NES und 2,4-D. Die durch die verschiedenen WS-Konzentrationen hervorgerufenen stoffwechselphysiologischen Veränderungen sind innerhalb der Versuchsreihen wenigstens in ihren typischen Fällen statistisch gut gesichert. Trotzdem könnte der Einwand erhoben werden, daß die besonders in den zusammenfassenden Darstellungen zum Ausdruck kommenden Unterschiede zwischen den einzelnen WS nur dadurch vorgetäuscht würden, daß die Wurzeln zu den verschiedenen Versuchszeiten unterschiedlich auf die WS reagiert hätten. Zeigen doch auch die zu den einzelnen Versuchsserien gehörigen Kontrollen erhebliche Abweichungen voneinander.

Daher wurden sowohl am 18. 3. als auch am 16. 6. 1952 je eine Versuchsserie mit je 2 Parallelreihen angesetzt, die von IES die Konzentrationen 10^{-4} m bis 10^{-6} m, von NES und 2,4-D die Konzentrationen 10^{-5} m und 10^{-6} m enthielten. Die Mittelwerte aus den jeweils 4 Parallelproben sind in Tabelle 17 zusammengestellt. Der Vergleich dieser Daten mit den oben angeführten zeigt gute Übereinstimmung. Die für die verschiedenen WS typischen Wirkungen auf den Stoffwechsel gehen auch aus diesen Versuchen wieder klar hervor. Gegen die unterschiedliche Wirksamkeit der 3 geprüften WS durfte damit schwerlich ein weiterer Einwand möglich sein.

Tabelle 17. *Ergebnisse der Parallelversuche mit IES, NES und 1,4-D.*

	K	IES			NES		2,4-D	
		10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-6}
l	42,0	14	16	20	13	16	12	15
Trockengew.	13,4	13,8	16,3	17,4	11,9	18,0	10,3	18,0
N	410	305	330	372	260	360	280	361
Δ Glucose	21,5	23,0	23,3	27,7	26,1	34,9	21,0	31,8
${}_{N}Q^{L}_{O_2}$	116	170	158	146	158	160	152	158
RQ	1,11	1,4	1,52	1,37	1,46	1,30	1,27	1,26
SW	1,12	1,09	1,61	1,49	0,73	0,87	0,65	1,04
l/Tr.	15,5	5,2	4,8	4,3	5,4	4,45	5,8	4,15
Δ N/Δ Tr.	22,0	13,7	13,0	14,9	11,7	13,5	16,5	13,5

4. Versuche mit Natriumfluorid.

a) Vorversuche. In einem Vorversuch wurde zunächst untersucht, welche Konzentration von NaF auf die Atmung Maiswurzeln hemmend wirkt. Zu diesem Zweck wurde zu den im Hauptraum der Atmungströge befindlichen 20 Maiswurzelspitzen (suspendiert in 3 cm³ m/45

Phosphatpuffer $p_H = 5{,}0$) nach einstündiger Versuchszeit aus dem seitlichen Kipper NaF verschiedener Konzentration gegeben und die Sauerstoffaufnahme in den anschließenden 8 Std gemessen. m/50 und m/100 führten nach etwa 2 Std zu einer deutlichen Atmungshemmung (Abb. 10), während m/500 innerhalb der Versuchszeit keinerlei Wirksamkeit zeigte.

Die Längenmessung der Spitzen ergab für m/50 eine vollständige, für m/100 eine 50%ige Hemmung des Längenwachstums. Bei m/500 war nur noch eine solche von 15% zu beobachten. m/50 erschien von vornherein für Dauerversuche zu stark und in 6 Parallelreihen wurden daher Konzentrationen von 10^{-2} bis 10^{-5} m näher untersucht.

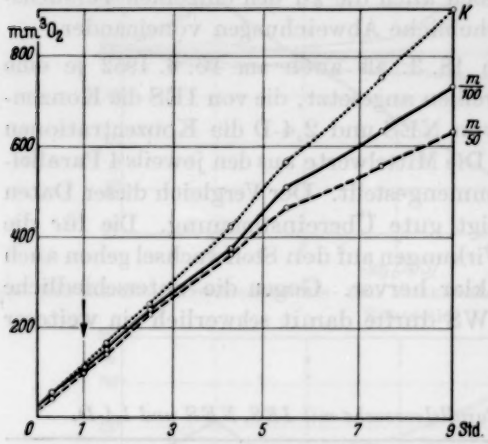


Abb. 10. Sauerstoffverbrauch von Maiswurzelspitzen bei NaF-Einwirkung.

b) Längenwachstum und anatomisch-morphologische Merkmale. Wie die Tabelle 18 zeigt tritt von $5 \cdot 10^{-4}$ m an eine Hemmung des Längenwachstums ein. Die leichte Förderung bei 10^{-4} m trat in einigen Reihen besonders deutlich in Erscheinung und es wurde versucht durch weitere Parallelproben dieser Konzentration eine Sicherung des Ergebnisses zu erzielen. Es konnte aber trotzdem nicht mehr als 80% Wahrscheinlichkeit für diese leichte Förderung erreicht werden.

Obwohl das Längenwachstum wie bei den oben angeführten WS durch NaF bis auf 22% gehemmt werden konnte, traten an den Wurzeln keinerlei morphologische Veränderungen auf. Die gehemmten Wurzeln sind lediglich kürzer als die Kontrollen, zeigen aber im übrigen voll-

Tabelle 18. *Gesamtlänge der Maiswurzeln bei verschiedenen NaF-Konzentrationen.*

Konzentration	n	l	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	32,2	3,70	1,66	—	—	—
10^{-5}	5	33,0	4,50	2,02	—	+ 0,8	—
10^{-4}	11	34,4	3,20	0,97	1,92	+ 2,2	80
$5 \cdot 10^{-4}$	5	29,2	2,25	1,01	1,93	− 3,0	80
10^{-3}	5	24,2	1,46	0,73	1,81	− 8,0	99
$2 \cdot 10^{-3}$	6	17,8	2,74	1,10	1,94	−14,4	99
10^{-2}	5	11,4	2,20	0,99	1,93	− 20,8	99

kommen normales Aussehen (Abb. 11). Auch auf Querschnitten waren keinerlei Veränderungen im anatomischen Aufbau der Wurzel zu erkennen.

c) Trockengewicht und Stickstoffgehalt. Geringer als auf das Längenwachstum ist der Einfluß auf die Trockengewichtszunahme (Tabelle 19). Daraus ergibt sich auch für die spezifische Länge mit steigender Konzentration eine Verminderung (Tabelle 24).

Sehr wenig beeinflußt wird der Stickstoffgehalt, und erst die sehr starke Konzentration von 10^{-2} m verursacht eine gesicherte Hemmung

Abb. 11. Bei Zusatz von NaF kultivierte Maiswurzeln. Von links nach rechts: Kontrolle $3 \cdot 10^{-3}$ m, 10^{-3} m, $5 \cdot 10^{-4}$ m, 10^{-4} m, 10^{-5} m.

(Tabelle 20). Daraus ergibt sich auch ein Anstieg des Quotienten $\Delta N/\Delta$ Tr. (Tabelle 24). Die Aminosäureausscheidung war durch die starken Konzentrationen nicht wie bei den WS gehemmt, sondern leicht gefördert. Eine exakte zahlenmäßige Angabe läßt sich jedoch auf Grund der ziemlich groben quantitativen Bestimmungsmethode (Fleckenverdünnungsverfahren) nicht machen. Die Unterschiede gegenüber den Kontrollen waren zu gering.

d) Atmung, Glucoseverbrauch und synthetischer Wirkungsgrad. Wie im Kurzversuch, so bleibt auch im Kulturversuch die Atmung bis zu sehr starken Konzentrationen unbeeinflußt; nur 10^{-2} m vermag eine gesicherte Wirkung auszuüben. Auch bei Beziehung auf Stickstoff ändert sich in diesem Falle das Bild nicht.

Tabelle 19. *Trockengewicht von je 5, bei Zusatz verschiedener NaF-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Trockengewicht	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	10,4	1,51	0,68	—	—	—
10^{-5}	5	9,4	3,2	1,4	—	−1,0	—
10^{-4}	11	9,8	1,7	0,5	—	−0,6	—
$5 \cdot 10^{-4}$	5	10,0	3,2	1,44	—	−0,4	—
10^{-3}	5	8,0	2,23	1,0	1,26	−2,4	90
$2 \cdot 10^{-3}$	6	7,3	0,95	0,4	0,88	−3,1	99
10^{-2}	5	6,1	1,58	0,71	1,05	−4,3	99

Tabelle 20. *Stickstoffgehalt von je 5, bei Zusatz verschiedener NaF-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	N	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	6	308	37,4	15,6	—	—	—
10^{-5}	6	298	60,0	25,0	—	−10	—
10^{-4}	6	305	50,9	21,4	—	− 3	—
$5 \cdot 10^{-4}$	6	310	35,2	14,7	—	+ 2	—
10^{-3}	6	292	53,8	22,5	—	−16	—
$2 \cdot 10^{-3}$	6	270	50,0	20,5	25,3	−38	80
10^{-2}	6	230	53,8	22,5	27,3	−78	95

Tabelle 21. *Atmungsintensität von Maiswurzeln nach Kultur bei NaF-Zusatz.*

Konzentration	n	Tr. $Q^{L}_{O_2}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	6	3,4	0,69	0,28	—	—	—
10^{-5}	5	3,3	0,53	0,23	—	−0,1	—
10^{-4}	6	3,55	0,4	0,16	—	+0,15	—
10^{-3}	5	3,1	0,69	0,31	—	−0,3	—
$2 \cdot 10^{-3}$	6	3,0	0,18	0,08	0,29	−0,4	80
10^{-2}	5	1,84	0,67	0,3	0,408	−1,56	99

Tabelle 22. *RQ von Maiswurzeln nach Kultur mit NaF-Zusatz.*

Konzentration	n	RQ	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	6	1,24	0,15	0,062	—	—	—
10^{-5}	5	1,14	0,11	0,050	0,078	−0,1	70
10^{-4}	6	1,17	0,08	0,033	0,067	−0,07	60
10^{-3}	5	1,17	0,02	0,009	0,063	−0,07	60
$2 \cdot 10^{-3}$	6	1,1	0,07	0,031	0,067	−0,14	95
10^{-2}	5	1,31	0,16	0,076	—	+0,07	—

Der RQ bleibt ebenfalls unverändert. Erst bei der stärksten Konzentration tritt eine leichte Erhöhung ein. Trotz der aus der Tabelle 21 ersichtlichen statistischen Sicherung des Absinkens des RQ bei mittleren Konzentrationen erscheint es sehr zweifelhaft, ob diese Erscheinung reell ist. Der Bezugswert liegt mit 1,24 an der oberen Grenze der für die Kontrollen üblichen Werte, und schon eine geringe Verschiebung nach unten ließe die Differenzen in den normalen Streuungsbereich fallen.

Die mit steigender Konzentration zunehmende Hemmung des gesamten Stoffumsatzes kommt in der Verminderung des Glucoseverbrauches (Tabelle 23) zum Ausdruck. In keinem Falle kommt es wie bei den WS zu einer Erhöhung desselben.

Der SW wird durch die mittleren NaF-Konzentrationen etwas verschlechtert (Tabelle 24), doch dürften die Werte noch im Streuungsbereich liegen. Eine deutliche Verminderung ergab sich nur bei 10^{-2} m.

Die Gesamtstoffbilanz der in den Atmungströgen ausgeführten Kulturen bestätigen dieses Ergebnis. Die geringen Unterschiede zwischen den in Tabelle 25 angegebenen Konzentrationen können nicht als reell betrachtet werden. Bei den Zahlen handelt es sich um Mittelwerte aus je 2 Parallelproben.

e) Zusammenfassende Darstellung der NaF-Wirkung. Stellt man die in obigen Tabellen angeführten Daten wie üblich kurvenmäßig in Prozent der Kontrolle das (Abb. 12a und b), so ergibt sich für die einfachen Faktoren der Abb. 12a ein typisches Hemmungsbild. Ohne in irgendeinem Bereich eine Förderung aufzuweisen, fallen alle Kurven mit steigender Konzentration ab; ganz im Gegensatz zu den oben dargestellten Kurven der WS, die mehr oder weniger stark in steigende und fallende Kurven aufspalten.

Tabelle 23. *Glucoseverbrauch von je 5, bei verschiedenen NaF-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Δ Glucose	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	17,0	3,6	1,61	—	—	—
10^{-5}	5	16,2	5,3	2,38	—	— 0,8	—
10^{-4}	11	15,3	4,5	1,36	—	— 1,7	—
10^{-3}	5	13,4	5,1	2,30	2,8	— 4,6	80
$2 \cdot 10^{-3}$	6	11,8	2,45	1,00	1,88	— 5,2	95
10^{-2}	5	10,6	4,1	1,81	2,40	— 6,4	95

Tabelle 24. *Quotienten aus den Tabellen 18—23.*

NaF	SW	l/Tr.	Δ N/Δ Tr.	NaF	SW	l/Tr.	Δ N/Δ Tr.
K	1,18	15,2	20,0	10^{-3}	0,97	15,0	25,8
10^{-5}	1,02	17,2	21,4	$2 \cdot 10^{-3}$	1,03	12,2	25,0
10^{-4}	1,1	17,5	21,2	10^{-2}	0,81	9,4	22,2
$5 \cdot 10^{-4}$	—	14,6	21,3				

Tabelle 25. *Gesamtstoffbilanz bei Zusatz von NaF (Gasphase O_2).*

	Δ Trokkengewicht	Δ N	Ausscheidung	Assimilierte Glucose	Δ Glucose	$-O_2$	RQ	Veratmete Glucose	SW Trockenglucose	SW Trocken-O_2	SW Glucose-O_2	$\overline{SW}$
K	6,8	150	0,6	7,6	12	2650	1,2	4,2	1,72	1,8	1,85	1,79
NaF 10^{-4}	5,9	110	0,6	6,7	10,6	2250	1,2	3,6	1,71	1,86	1,94	1,84
NaF $3 \cdot 10^{-3}$	4,25	100	0,6	5,0	8,0	2180	1,1	3,2	1,66	1,54	1,50	1,57

Die Kurven für die Quotienten (Abb. 12b) verlaufen wesentlich flacher als die entsprechenden Kurven der WS, und besonders der Anstieg des Quotienten $\Delta N/\Delta$ Tr. ergibt diesen gegenüber einen charakteristischen Unterschied.

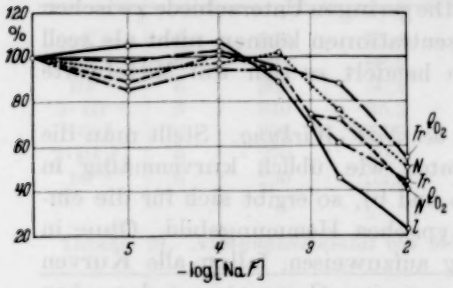


Abb. 12a. Längen-, Trockengewichts- und Stickstoffzunahme sowie Q_{O_2} in Prozent der Kontrolle.

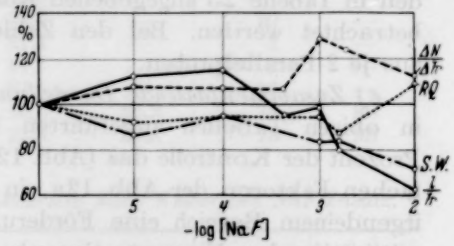


Abb. 12b. Spezifische Länge, $\Delta N/\Delta$ Tr., RQ und SW in Prozent der Kontrolle.

5. Versuche mit Vitamin B_1 (Aneurin).

a) Längenwachstum und anatomisch-morphologische Merkmale. Insgesamt wurden 4 Parallelreihen über einen Konzentrationsbereich von $3 \cdot 10^{-2}$ bis $3 \cdot 10^{-5}$ m ausgeführt und nur für die optimale Konzentration $3 \cdot 10^{-3}$ m und die Kontrolle zusätzlich 6 weitere Parallelen verarbeitet.

Die Daten der Tabelle 26 lassen erkennen, daß 10^{-3} m und $3 \cdot 10^{-3}$ m für das Längenwachstum optimal sind. Stärkere Konzentrationen wirken dagegen hemmend.

Tabelle 26. *Gesamtlänge der Maiswurzeln bei Kultur mit verschiedenen B_1-Konzentrationen.*

Konzentration	n	l	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	10	32,5	7,1	2,25	—	—	—
$3 \cdot 10^{-5}$	4	33.0	6,7	3,35	—	+ 0,5	—
$3 \cdot 10^{-4}$	4	34,0	5,8	2,9	—	+ 1,5	—
10^{-3}	4	39,0	6,0	3,0	3,74	+ 6,5	90
$3 \cdot 10^{-3}$	10	40,0	4,9	1,39	2,6	+ 7,5	99
10^{-2}	4	25,0	5,2	2,6	3,47	— 7,5	95
$3 \cdot 10^{-2}$	4	12,0	5,2	2,6	3,47	— 20,5	99

Mit der Hemmung des Längenwachstums der extrem hohen Konzentrationen geht, ähnlich wie bei den WS, eine Deformation der Wurzeln einher. Sie sind kurz und dick, besitzen eine glasige, spröde Konsistenz und zeigen niemals äußerlich sichtbare Nebenwurzeln (Abb. 13).

Der Querschnitt zeigt ähnlich wie bei den durch WS gehemmten Wurzeln eine starke Auflockerung des Rindenparenchyms. Die Zellen sind in radialer Richtung zum Teil außerordentlich lang gestreckt.

Dies tritt allerdings bei Handschnitten viel deutlicher in Erscheinung als bei dünnen Mikrotomschnitten. Die Zellen liegen nämlich in der Regel mit ihrer Längsachse nicht senkrecht zum Zentralzylinder und werden daher schräg getroffen. Der Zentralzylinder weist keine auf-

Abb. 13. Bei Zusatz von B_1 kultivierte Maiswurzeln. Von links nach rechts: Kontrolle, $3 \cdot 10^{-2}$ m, 10^{-2} m, $3 \cdot 10^{-3}$ m, 10^{-3} m.

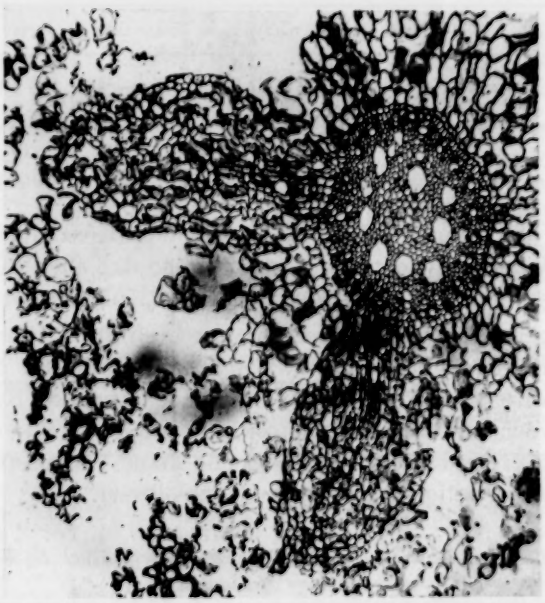


Abb. 14. Querschnitt durch eine bei Zusatz von 10^{-2} m B_1 kultivierte Maiswurzel.

fälligen Veränderungen auf. Im Vergleich zum Rindenparenchym ist er erheblich kleiner als bei normalen und durch WS gehemmten Wurzeln. Nebenwurzeln traten wesentlich seltener auf als bei den Kontrollen, und die wenigen Anlagen kamen nicht zur Weiterentwicklung, da schon bald das ganze Rindenparenchym nur noch stark vergrößert blasige Zellen aufwies und selbst der Zentralzylinder der jungen Nebenwurzeln kaum mehr als solcher zu erkennen war. Abb. 14 zeigt einen Querschnitt

durch den Zentralzylinder mit derartig deformierten Nebenwurzeln. Von dem Rindenparenchym der Hauptwurzel sind nur noch Reste erhalten.

Derartige Deformationen traten nur bei den beiden stärksten Konzentrationen auf. Die im Längenwachstum geförderten Wurzeln ließen anatomisch keine Besonderheiten erkennen und wiesen eine besonders rege Seitenwurzelbildung auf.

b) Trockengewicht und Stickstoffgehalt. Eine gesicherte Steigerung des Trockengewichtes ergab sich nur bei $3 \cdot 10^{-3}$ m, doch spricht die Stetigkeit des Anstieges bei den vorhergehenden Konzentrationen für dessen Realität (Tabelle 27).

Tabelle 27. *Trockengewicht von je 5, bei Zusatz verschiedener B_1-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Trockengewicht	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	10	12,5	4,18	1,32	—	—	—
$3 \cdot 10^{-5}$	4	11,5	2,60	1,3	—	−1,0	—
$3 \cdot 10^{-4}$	4	13,5	3,2	1,6	—	+1,0	—
10^{-3}	4	14,0	3,9	1,95	—	+1,5	—
$3 \cdot 10^{-3}$	10	16,4	3,86	1,22	1,79	+3,9	95
10^{-2}	4	15,0	2,8	1,4	1,92	+2,5	80
$3 \cdot 10^{-2}$	4	8,3	2,51	1,25	1,81	−4,2	95

Bei der das Längenwachstum hemmenden Konzentration 10^{-2} m nimmt das Trockengewicht immer noch zu, so daß auch in diesem Fall die spezifische Länge mit steigender Konzentration abnimmt (Tabelle 31).

Als einziger der in dieser Arbeit untersuchten Stoffe führt B_1 zu einer gesicherten Förderung des Stickstoffeinbaues (Tabelle 28). Die maximal fördernde Konzentration ist identisch mit der optimalen Konzentration für Längenwachstum und Trockengewichtszunahme. Für das Verhältnis $\Delta N/\Delta$ Tr. ergibt sich dementsprechend keine Veränderung; es liegt bei allen Konzentrationen über dem Kontrollwert.

Tabelle 28. *Stickstoffgehalt von je 5, bei Zusatz verschiedener B_1-Konzentrationen kultivierten Maiswurzeln.*

Konzentration	n	N	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	8	355	87	31	—	—	—
$3 \cdot 10^{-5}$	4	390	88	44	—	+ 35	—
$3 \cdot 10^{-4}$	4	430	90	45	34	+ 75	90
$3 \cdot 10^{-3}$	8	495	95	36,5	47,8	+140	99
$3 \cdot 10^{-2}$	2	480	—	—	—	+125	—
10^{-2}	4	310	70	35	—	− 45	—

In der Nährlösung konnten bei 10^{-2} m und $3 \cdot 10^{-3}$ m keine Aminosäuren nachgewiesen werden. Bei 10^{-3} m waren dagegen alle üblichen Aminosäuren, wenn auch in etwas geringeren Mengen, in der Nährlösung auffindbar.

c) Atmung, Glucoseverbrauch und synthetischer Wirkungsgrad. Im Kurzversuch konnte nur bei $3 \cdot 10^{-2}$ m nach einigen Stunden eine Atmungshemmung gefunden werden. Alle übrigen Konzentrationen blieben ohne Einfluß auf die Atmung. Die Q_{O_2}-Bestimmung nach Abschluß der Kulturen (Tabelle 9) erbrachte für alle Konzentrationen eine leichte, aber statistisch nicht zu sichernde Erhöhung; nur die stärkste Konzentration führte zu einer Hemmung. Benutzt man als Bezugsgröße an Stelle des Trockengewichts wiederum den Stickstoff, so ergeben sich keine Änderungen (Tabelle 31).

Der RQ war wie bei NaF außerordentlich einheitlich und stieg nur bei der stärksten Konzentration unbedeutend an (Tabelle 30).

Tabelle 29. *Atmungsintensität von Maiswurzeln nach Kultur bei B_1-Zusatz.*

Konzentration	n	Tr. $Q^L_{O_2}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	9	3,07	0,85	0,27	—	—	—
$3 \cdot 10^{-5}$	2	3,10	—	—	—	+0,03	—
$3 \cdot 10^{-4}$	5	3,20	0,77	0,34	—	+0,13	—
10^{-3}	4	3,22	0,86	0,42	—	+0,15	—
$3 \cdot 10^{-3}$	9	3,30	0,61	0,20	—	+1,23	—
10^{-2}	2	3,30	—	—	—	+0,23	—
$3 \cdot 10^{-2}$	4	2,70	0,58	0,29	0,39	−0,37	60

Tabelle 30. *RQ von Maiswurzeln nach Kultur bei B_1-Zusatz.*

Konzentration	n	RQ	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	9	1,2	0,13	0,04	—	—	—
$3 \cdot 10^{-4}$	5	1,16	0,067	0,03	—	−0,04	—
10^{-3}	4	1,24	0,176	0,08	—	+0,04	—
$3 \cdot 10^{-3}$	9	1,15	0,178	0,06	—	−0,05	—
10^{-2}	1	1,12	—	—	—	−0,08	—
$3 \cdot 10^{-2}$	2	1,3	—	—	—	+0,1	—

Tabelle 31. *Quotienten aus den Tabellen 26—29.*

B_1	l/Tr.	$\Delta N/\Delta$ Tr.	$_N Q^L_{O_2}$	B_1	l/Tr.	$\Delta N/\Delta$ Tr.	$_N Q^L_{O_2}$
K	13,0	20,5	107	10^{-3}	11,4	25,0	108
10^{-5}	14,3	26,5	91	$3 \cdot 10^{-3}$	8,4	26,5	103
10^{-4}	12,5	25,5	101	10^{-2}	7,0	27,5	72
$3 \cdot 10^{-4}$	14,0	—	—				

Tabelle 32. *Gesamtstoffbilanz bei Zusatz verschiedener B_1-Konzentrationen.*

		Δ Trokkengewicht	ΔN	Ausscheidung	Assimilierte Glucose	ΔGlucose	RQ	$-O_2$	Veratmete Glucose	SW Trockenglucose	SW Trocken-O_2	SW Glucose-O_2	SW
K	Luft	10,5	230	0,3	10,87	15,75	1,2	3150	5,05	2,23	2,16	2,12	2,17
	O_2	5,5	170	0,6	6,23	10,4	1,1	2910	4,3	1,48	1,45	1,41	1,44
B_1 $3\cdot10^{-2}$	O_2	2,0	60	0,2	2,24	—	1,2	1850	2,95	—	0,76	—	—
B_1 $3\cdot10^{-3}$	Luft	11,0	260	0,2	11,2	—	1,2	3260	5,1	—	2,2	—	—
	O_2	9,2	250	0,6	10,0	—	1,1	4500	6,6	—	1,51	—	—

Die starken B_1-Konzentrationen störten bei der Glucoseanalyse das Reduktionsverfahren, so daß der Glucoseverbrauch von den meisten Proben nicht bestimmt werden konnte. Erst später stand ein genügend genaues Polarimeter zur Verfügung, so daß wenigstens für die wirksamste Konzentration ($3\cdot10^{-3}$ m) noch einige Glucosebestimmungen

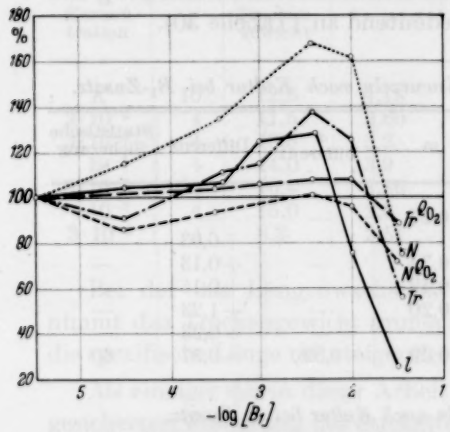


Abb. 15a. Längen-, Trockengewichts- und Stickstoffzunahme sowie Q_{O_2} in Prozent der Kontrolle.

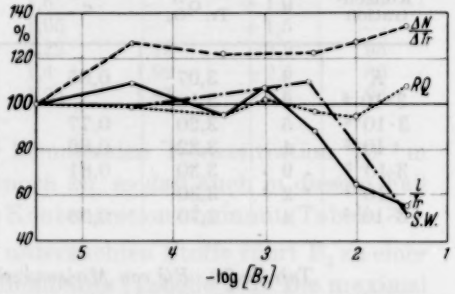


Abb. 15b. Spezifische Länge, $\Delta N/\Delta$ Tr., RQ und SW in Prozent der Kontrolle.

ausgeführt werden konnten. Aus den erhaltenen Daten errechnete sich ein SW von 1,3, also nicht wesentlich verschieden von den Kontrollen.

Zur Bestimmung des SW wurden außerdem einige Kulturen in den Atmungströgen der Warburg-Apparatur ausgeführt. Wie Tabelle 32 zeigt, führte die optimale Konzentration weder bei Verwendung von Luft, noch von Sauerstoff in der Gasphase zu einer signifikanten Veränderung des SW. Nur bei der extremen Konzentration von $3\cdot10^{-2}$ m trat eine Verminderung desselben ein. Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus 3 Parallelen.

d) Zusammenfassende Darstellung der B_1-Wirkung. Zeigte die zusammenfassende Darstellung der NaF-Wirkung ein typisches Hemmungsbild, so kann man, wenn man in Abb. 15a nur die Konzentrationen

bis $3 \cdot 10^{-3}$ m betrachtet, von einem Bild einer generellen Wachstumsförderung sprechen. Die Konzentrationen höher als $3 \cdot 10^{-3}$ m führen wieder zu unspezifischen Schädigungen, und man darf sie bei der Beurteilung der B_1-Wirkung nicht berücksichtigen.

Die Kurven für die Quotienten (Abb. 15b) verlaufen bis $3 \cdot 10^{-3}$ m sehr flach und weichen erst dann auseinander. In bezug auf die Einheitlichkeit des Kurvenverlaufs unterscheiden sich NaF und B_1 grundsätzlich von den WS. Andererseits unterscheiden sich die beiden genannten Stoffe gegenseitig durch die entgegengesetzte Richtung des Kurvenverlaufes; von den unspezifisch wirkenden stärksten Konzentrationen, bei denen es in allen untersuchten Fällen zu ganz ähnlichen Wirkungen kommt, abgesehen.

6. Kombination von B_1 mit Wuchsstoffen und NaF.

Nachdem sich $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 für alle Wachstumsvorgänge als optimal erwiesen hatte, lag der Gedanke nahe, mit dieser Konzentration alle anderen Stoffe zu kombinieren, um noch deutlichere Unterschiede herauszuarbeiten. Tabelle 33 zeigt das Ergebnis eines Versuches, bei dem mit $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 kombiniert wurden: 10^{-5} m IES, NES und 2,4-D bzw. 10^{-2} m NaF.

Tabelle 33. *Zusammenstellung der Ergebnisse eines Kombinationsversuches von B_1 mit WS. Alle Zahlen sind Mittelwerte aus 4 Parallelen.*

	$3 \cdot 10^{-3}$ B_1	B_1 $3 \cdot 10^{-3}$				K
		2,4-D	NES	IES	NaF	
l	40,2	14,0	14,0	30,8	11,0	37,2
Trockengew.	18,4	7,6	9,2	18,3	7,2	13,6
N	505	270	270	445	270	470
Δ Glucose	29,5	19,4	23,8	26,6	10,4	20,9
$_{N}Q^{L}_{O_2}$	110	152	140	107	87	101
RQ	1,3	1,3	1,5	1,3	1,2	1,19
SW	1,3	0,7	0,67	1,77	1,08	1,43
l/Tr.	10,8	9,4	7,7	8,4	13,2	13,7
Δ N/Δ Tr.	22,0	23,5	16,0	18,7	25,5	28,8

Die Daten für NES, 2,4-D und NaF entsprechen vollkommen den Erwartungen. Dagegen ergab sich bei IES eine weitgehende Aufhebung der bei dieser Konzentration zu erwartenden Hemmung des Längenwachstums. Auf diesen überraschenden Befund hin wurden weitere Versuchsreihen angesetzt, bei denen zunächst nur das Längenwachstum als der am leichtesten zu untersuchende Faktor berücksichtigt

wurde. Wie schon früher ausgeführt, fällt bei NES und 2,4-D die Konzentration 10^{-5} m bereits in den Bereich der unspezifischen Hemmung, und es wurde daher von diesen Stoffen nur mehr die Konzentration 10^{-6} m verwandt. Die Abb. 16 zeigt das Ergebnis.

Deutlich tritt wieder die Enthemmung der mit 10^{-5} m IES behandelten Wurzeln bei Zusatz von $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 in Erscheinung. Für 10^{-6} m IES ergibt sich bei $3 \cdot 10^{-4}$ m B_1 eine allerdings geringere Enthemmung. Eigenartigerweise führt die nächst stärkere B_1-Konzentration nicht zu einer derartigen Wirkung. NES und 2,4-D werden in ihrer Wirkung durch die Kombination mit B_1 anscheinend nicht beeinflußt.

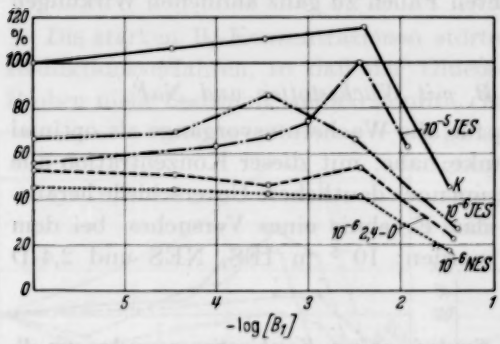


Abb. 16. Länge der Maiswurzeln bei Kombination von B_1 und WS in Prozent der Kontrolle dargestellt.

Hier ergibt sich also ein sehr deutlicher Unterschied zwischen dem physiologischen WS IES und den synthetischen Produkten 2,4-D und NES. Ob dies auch bei anderen Objekten zutrifft, bedarf allerdings erst der näheren Untersuchung. Versuche in dieser Richtung sind am hiesigen Institut im Gange. Im Rahmen vorliegender Arbeit sollte nur noch die Wechselwirkung zwischen $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 und 10^{-5} m IES einer genaueren Betrachtung unterzogen werden, um zeigen zu können, welche stoffwechselphysiologischen Wirkungen der IES durch den B_1-Zusatz aufgehoben werden können.

7. Wechselwirkung zwischen Vitamin B_1 und β-Indolylessigsäure.

In den Tabellen 34—40 sind die Ergebnisse von 5 Parallelreihen, die je eine Kontrolle, eine Probe mit Zusatz von $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 bzw. 10^{-5} m IES und 2 Proben mit einem Zusatz einer Kombination der letzteren enthielten, niedergelegt. Dabei ist die Differenz der Proben mit B_1 und IES gegenüber den Werten der Kontrolle, die der Kombination dagegen gegenüber der Probe mit IES berechnet. Dadurch kommt die Aufhebung des IES-Einflusses durch die B_1-Zugabe deutlicher zum Ausdruck.

Fast in allen Fällen ergeben sich zwischen dem reinen IES-Zusatz und der Kombination mit B_1 deutliche Unterschiede, die in der Mehrzahl gut gesichert sind. Die weitgehende Beseitigung der Hemmung des Längenwachstums ist von der Aufhebung der mit der IES-Einwirkung verbundenen Deformation der Wurzeln begleitet. Nur an der Basis

Tabelle 34. *Gesamtlänge der Maiswurzeln.*

Konzentration	n	$\bar{l}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	42,5	7,5	3,2	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	45,0	6,0	2,7	—	+ 2,5	—
IES 10^{-5}	5	15,2	1,3	0,57	3,23	− 27,3	99
B_1 + IES	9	39,2	5,5	1,83	1,87	+ 14,0	99

Tabelle 35. *Trockengewicht von je 5 Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Trockengewicht	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	11,5	1,57	0,72	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	17,4	3,8	1,7	1,08	+ 5,9	99
IES 10^{-5}	5	18,8	1,4	0,63	0,95	+ 7,3	99
B_1 + IES	9	17,0	1,79	0,57	0,84	− 1,8	90

Tabelle 36. *Gesamtstickstoffgehalt von je 5 Maiswurzeln.*

Konzentration	n	N	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	330	30	13,0	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	465	37	16,6	21,0	+ 135	99
IES 10^{-5}	5	320	25	12,0	17,4	− 10	—
B_1 + IES	9	440	28	9,3	15,0	+ 120	99

Tabelle 37. *Glucoseverbrauch von je 5 Maiswurzeln.*

Konzentration	n	Δ Glucose	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	18,8	2,4	1,07	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	29,0	3,1	1,39	1,73	+ 10,2	99
IES 10^{-5}	5	28,9	4,2	1,88	2,16	+ 10,1	99
B_1 + IES	9	25,9	3,6	1,20	2,0	− 3	80

Tabelle 38. *Atmungsintensität am Ende der Kulturdauer.*

Konzentration	n	Tr. $Q^L_{O_2}$	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	2,82	0,43	0,19	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	2,90	0,30	0,13	—	+0,08	—
IES 10^{-5}	4	2,30	0,26	0,13	0,23	−0,52	90
B_1 + IES	9	2,66	0,35	0,12	0,17	+0,36	90

Tabelle 39. *RQ der Maiswurzeln am Ende der Kulturdauer.*

Konzentration	n	RQ	σ	m	σ Differenz	Differenz	Statistische Sicherung %
K	5	1,25	0,05	0,023	—	—	—
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	5	1,2	0,03	0,013	0,026	−0,05	—
IES 10^{-5}	4	1,39	0,06	0,030	0,037	+0,14	99
B_1 +IES	9	1,17	0,08	0,027	0,042	−0,22	99

Tabelle 40. *Quotienten aus den Tabellen 34—38.*

	SW	l/Tr.	Δ N/Δ Tr.	$_N Q^L_{O_2}$
K	1,00	18,5	22,5	98
B_1 $3 \cdot 10^{-3}$	1,2	12,8	21,0	108
IES 10^{-5}	1,42	4,1	10,4	135
B_1 + IES	1,38	11,5	20,0	102

treten noch Verdickungen auf, der übrige Teil erscheint aber in den meisten Fällen normal. Allerdings waren bei allen Proben stets auch einige Wurzeln dabei, die noch über größere Abschnitte hin verdickt waren und auch im Längenwachstum zurückblieben. Der Unterschied gegenüber den nur mit IES behandelten Wurzeln war aber auch dann noch erheblich.

Zur übersichtlicheren Darstellung dieser Ergebnisse sind die Daten der obigen Tabellen in einem Diagramm (Abb. 17) verarbeitet. Dabei ist die Kontrolle als 100% gesetzt und die Proben mit einfachen bzw. kombinierten Zusätzen sind in Prozent der Kontrolle als Säulen wiedergegeben.

Bei allen untersuchten Stoffwechselfunktionen mit Ausnahme des SW erfolgt offensichtlich eine Aufhebung der IES-Wirkung und eine Angleichung an die durch B_1 bedingten Verhältnisse. Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen, zellfremden WS-Antagonisten wie z. B. α-(1-Naphthylmethylsulfid)-propionsäure (Aberg 1950), α-Parachlorphenoxyisobuttersäure (Burström 1951) oder 2,3,5-Trijodbenzoesäure (Thimann und Bonner 1948) handelt es sich bei B_1 um einen zelleigenen WS-Antagonisten. Für das Verständnis der Regulationen in der Zelle,

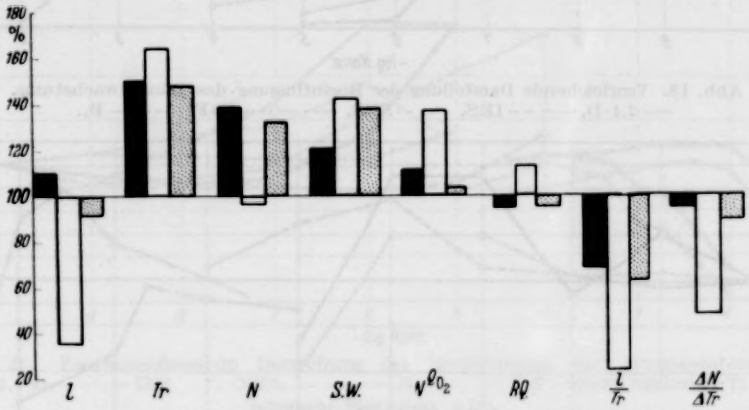


Abb. 17. Diagramm für die Kombinationswirkung der IES mit B_1. Schwarz $3 \cdot 10^{-3}$ B_1; weiß 10^{-5} m IES; punktiert Kombination.

die in letzter Zeit (vgl. Pohl 1952) als „Wuchsstoff-Hemmstoffproblem" besondere Beachtung erfuhren, könnte diese Beobachtung von Bedeutung sein.

D. Diskussion der Ergebnisse.

Waren bisher alle Kurven für die stoffwechselphysiologische Wirkung eines Stoffes zu einem zusammenfassenden Bild vereinigt, so werden jetzt alle einen bestimmten Faktor betreffenden Kurven der verschiedenen Stoffe gemeinsam dargestellt. Auf diese Art lassen sich die Übereinstimmungen und Unterschiede zwischen den Wirkungen der einzelnen Stoffe besser überblicken. Abb. 18 zeigt die Kurvenschar für das Längenwachstum. Die WS-Kurven liegen außerordentlich einheitlich beisammen und nur die IES unterscheidet sich von den anderen etwas durch die geringe Förderung bei 10^{-9} m. Die Kurven für NaF und B_1 sind gegenüber den WS-Kurven um 3 Zehnerpotenzen verschoben und verlaufen wesentlich steiler.

Etwas mehr differieren die Kurven für die Trockengewichtszunahme (Abb. 19). Die Unterschiede zwischen den 3 WS sind aber nur quantitativer Natur und der Kurvencharakter ist durchwegs ähnlich. Auffallend ist die größere Ausgeglichenheit der IES-Kurve. NaF und B_1 wirken abgesehen vom unspezifischen Bereich gerade entgegengesetzt.

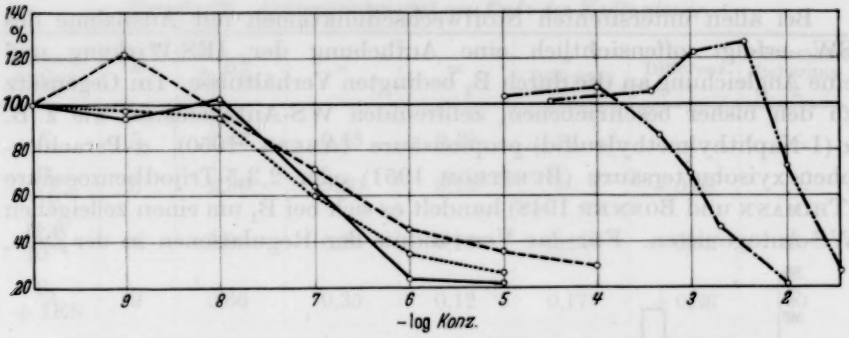


Abb. 18. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung des Längenwachstums.
—— 2,4-D, – – – – IES, · · · · · NES, —·—·— NaF, —·· — B_1.

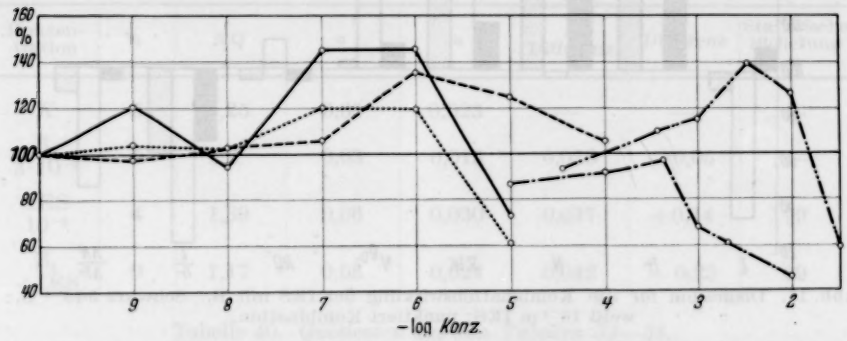


Abb. 19. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung der Trockengewichtszunahme.
—— 2,4-D, – – – – IES, —·—·— NaF, —·· — B_1, · · · · NES.

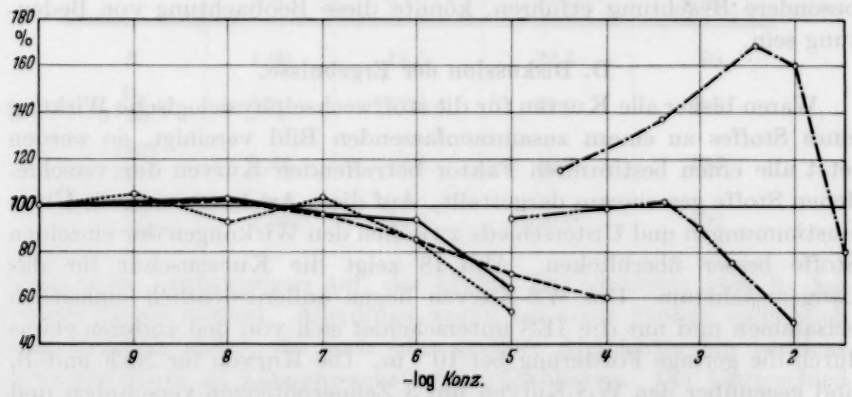


Abb. 20. Vergleichende Darstellung der Beeinflussung des Stickstoffeinbaues.
—— 2,4-D, – – – – IES, · · · · NES, —·—·— B_1, —·· — NaF.

Völlig einheitlich verhalten sich die WS in Hinsicht auf den Stickstoffeinbau (Abb. 20).

Betrachtet man die Kurven für die Sauerstoffaufnahme (Abb. 21), so fällt die Mittelstellung der NES gegenüber den beiden anderen WS

ins Auge. Angedeutet ist sie mehr oder weniger deutlich auch bei den vorhergehenden Kurvenbildern. Als aktivste Substanz erweist sich 2,4-D; gleichgültig, ob man den Sauerstoffverbrauch auf Trockengewicht (kräftigere Signierung) oder auf Stickstoffgehalt (schwache Signierung) bezieht. Trotz der erheblichen Unterschiede zwischen den 3 WS-Kurven weisen die Kurven doch nur einen graduell, nicht prinzipiell verschiedenen Verlauf auf. NaF führt nur zu einer fortschreitenden Hemmung, während

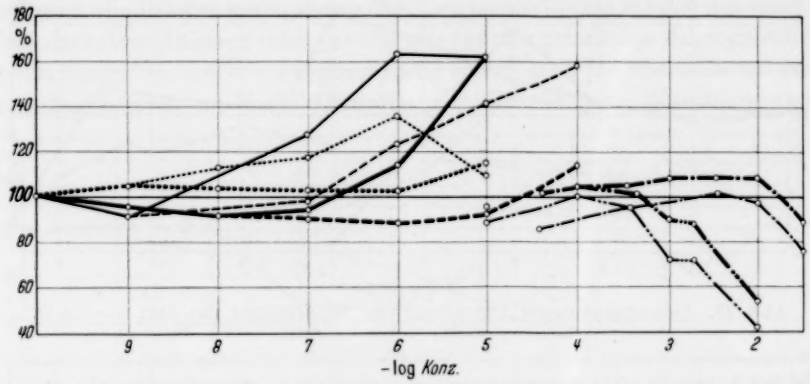


Abb. 21. Zusammenfassende Darstellung der Beeinflussung der Atmungsintensität. —— 2,4-D, – – – – IES, · · · · NES, —·—·— B_1, —··— NaF; starke Signierung Tr. Q_{O_2}, schwache Signierung $_N Q_{O_2}$.

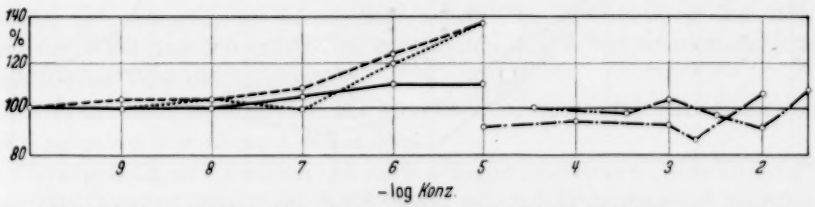


Abb. 22. Zusammenfassende Darstellung der Beeinflussung des RQ. —— 2,4-D, – – – – IES, · · · · NES, —·—·— NaF, —··— B_1.

B_1 mit Ausnahme des letzten, unspezifischen Abschnittes keine Veränderung der Atmungsintensität bewirkt.

Im Gegensatz zu NaF und B_1, die nur bei extremen Konzentrationen zu einer leichten Erhöhung des RQ-Wertes führen, erfolgt bei den WS ein stetiger Anstieg, der bei 2,4-D allerdings nur sehr gering ist (Abb. 22).

Die größten Unterschiede zwischen den WS-Kurven ergeben sich bei der Gegenüberstellung der Kurven für den SW (Abb. 23). 2,4-D und NES führen schon von 10^{-7} m an zu einer erheblichen Verschlechterung der Syntheseleistungen, während bei IES selbst die für Wurzeln sehr hohe Konzentration von 10^{-4} m noch keine Verminderung gegenüber der Kontrolle hervorruft. Durch dieses Verhalten kommt gut zum Ausdruck, daß es sich bei IES um einen harmonisch in den Stoffwechsel

eingefügten, zelleigenen WS handelt, während NES und 2,4-D doch nur unvollkommene Ersatzmittel sind. NaF und B_1 verändern in ihrem spezifischen Wirkungsbereich den SW nur sehr wenig.

Die Darstellung der spezifischen Länge ergibt entsprechend den einheitlichen Kurven für Länge und Trockengewicht ein sehr gleichförmiges Bild (Abb. 24). In diesem Falle stimmen die Kurven für NaF und B_1

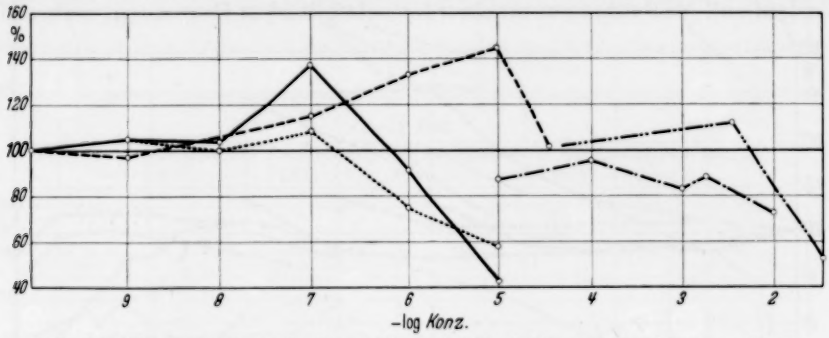


Abb. 23. Zusammenfassende Darstellung der Beeinflussung des SW. —— 2,4-D, – – – – IES, · · · · NES, —·—·— NaF, —··— B_1.

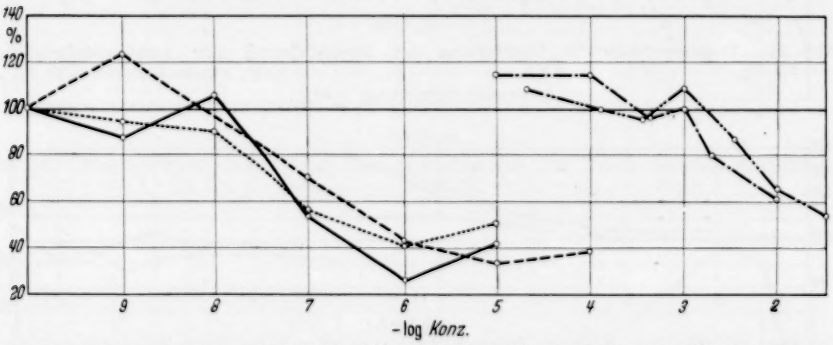


Abb. 24. Zusammenfassende Darstellung der Beeinflussung der spezifischen Länge. —— 2,4-D, – – – –IES, · · · · NES, —·—·— NaF, —··— B_1.

mit den WS-Kurven im Verlauf überein, was bei allen anderen bisherigen Darstellungen nie der Fall war. Dies ist eine klare Veranschaulichung der Tatsache, daß das Längenwachstum durch irgendwelche Eingriffe immer viel rascher gestört werden kann als der Substanzeinbau. Die Verwendung des Längenwachstums als alleinigen Merkmals für die Wirksamkeit einer Substanz auf das Wachstum, wie es lange Jahre in der WS-Forschung üblich war, kann daher nur ein sehr unvollständiges Bild ergeben.

In bezug auf den Quotienten $\Delta N/\Delta$ Tr. (Abb. 25) besteht zwischen den Kurven der WS und denen für NaF und B_1 wieder ein grundsätzlicher Unterschied. Erstere zeigen bei den wirksameren Konzentrationen einen Abfall, letztere dagegen einen Anstieg.

Überblickt man die obigen Kurven und versucht abschließend die eingangs gestellten Fragen zu beantworten, so läßt sich vielleicht folgendes sagen:

1. Die untersuchten WS rufen qualitativ ganz ähnliche Stoffwechseländerungen hervor wie IES und unterscheiden sich davon nur in quantitativer Hinsicht. Es ist jedoch nicht möglich, durch einfache Parallelverschiebung der einzelnen Kurven diese zur Deckung zu bringen, so daß man nicht sagen kann, dieser Stoff wirke soviel mal stärker als jener. Eine derartige Aussage wäre jeweils nur für die gerade ins Auge gefaßte Funktion gültig, trifft aber gleichzeitig nicht auch für die anderen zu. Am deutlichsten ist diese Diskrepanz vielleicht beim Vergleich von

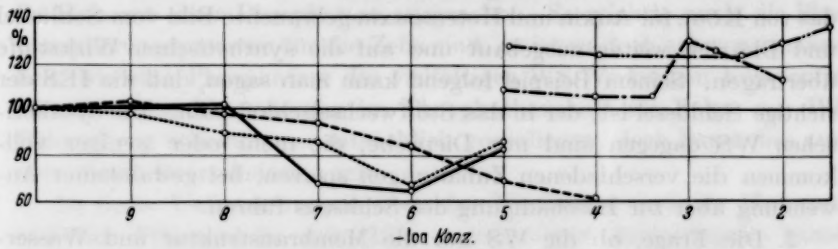


Abb. 25. Zusammenfassende Darstellung der Beeinflussung des Quotienten $\Delta N/\Delta Tr.$ — 2,4-D, - - - - IES, · · · · NES, —·—·— NaF, —··— B_1.

Längenwachstum und SW. Bei der IES entspricht der starken Hemmung des Längenwachstums eine erhebliche Verbesserung des SW, bei der NES dagegen erfolgt im entsprechenden Konzentrationsbereich schon eine Verschlechterung.

Gegen die Identität des Wirkungsmechanismus der verschiedenen WS sprechen vor allem 2 Befunde:

a) Die bei Maiswurzeln schon nach 8 Tagen eintretende „Gewöhnung" an IES konnte weder bei NES, noch bei 2,4-D beobachtet werden. Allerdings könnte dieser Befund objektbedingt sein, denn Morel (1947) erzielte bei Weinrebengewebe die gleiche „Gewöhnung" an NES, wie sie bei anderen Gewebekulturen nur für IES beschrieben wurde (Gautheret 1942b, Kandler 1952).

b) Durch Kombination mit B_1 konnte die durch IES, nicht aber die durch 2,4-D oder NES verursachte Hemmung des Längenwachstums aufgehoben werden. Auch hier erscheint jedoch bei der Beurteilung und Verallgemeinerung des Befundes Vorsicht am Platze. Vorläufige Versuche über die Wirkung derartiger Kombinationen auf das Wachstum der *Avena*-Koleoptilen erbrachten keine so durchgehenden Unterschiede zwischen IES und 2,4-D als Kombinationspartnern des B_1.

Vielleicht darf hier noch auf die bekannte Tatsache hingewiesen werden, daß IES nicht auf Mikroorganismen, die sie allerdings produzieren, und Algen (abgesehen von sehr abgeschwächten Effekten, wie

sie z. B. Algéus 1946 fand) wirkt. Dies gilt auch für 2,4-D und NES. Am hiesigen Institut wurde vergeblich nach einem Einfluß dieser Stoffe auf den Glucoseumsatz bei *Chlorella* gesucht (Schäfer 1951). Trotz weitgehender Variation von Versuchsbedingungen und Vorbehandlung der Algen konnte weder in der Sauerstoffaufnahme, noch im Wirkungsgrad der oxydativen Assimilation irgendein Einfluß der WS gefunden werden.

Auch diese Tatsache spricht wie die meisten der in vorliegender Arbeit erhobenen Befunde dafür, daß die unter dem Ausdruck „Streckungswuchsstoffe oder Auxone" zusammengefaßten Stoffe tatsächlich in ähnlicher Weise zur Wirkung kommen. Pohl (1952) hat vor kurzem das von Kögl für Auxin und Heteroauxin gebrauchte Bild vom Schlüssel und Dietrich weiter ausgebaut und auf die synthetischen Wirkstoffe übertragen. Seinem Beispiel folgend kann man sagen, daß die IES der richtige Schlüssel ist, der in das Stoffwechselschloß paßt. Die synthetischen WS dagegen sind nur Dietriche, die mehr oder weniger vollkommen die verschiedenen Zuhaltungen sperren, bei gewaltsamer Anwendung aber zur Beschädigung des Schlosses führen.

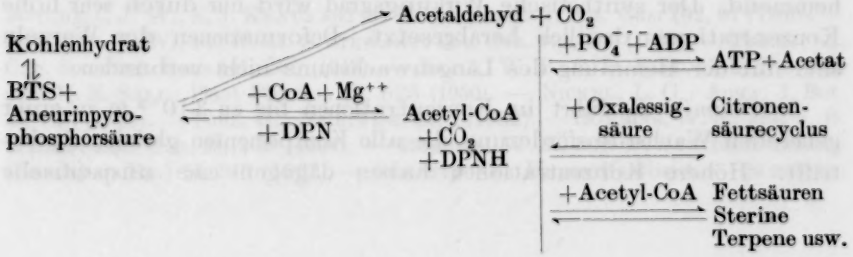
2. Die Frage, ob die WS nur die Membranstruktur und Wasserpermeabilität beeinflussen oder in den Stoffwechsel direkt eingreifen, kann wie schon früher (Kandler und Vieregg 1953) nur zugunsten letzterer Auffassung beantwortet werden. Es ist schwer vorstellbar, wie eine erhöhte Wasserpermeabilität eine vermehrte Substanzeinlagerung und erhöhte synthetische Leistungsfähigkeit zur Folge haben soll. Allenfalls wäre noch eine Anregung des gesamten Stoffwechsels auf Grund der stärkeren Quellung und der damit verbundenen Erleichterung der chemischen Reaktionen vorstellbar. Eine für die WS so charakteristische Verschiebung des Quotienten $\Delta N/\Delta Tr.$ dürfte aber damit schwerlich verbunden sein.

Es könnte eingewendet werden, daß die verwendeten WS-Konzentrationen viel zu hoch waren und nur unspezifische Hemmungserscheinungen analysiert wurden. Dagegen ist zu sagen, daß Vermehrung des Trockengewichts und Verbesserung des SW auf keinen Fall als solche aufgefaßt werden können. Wie schädigende Konzentrationen auf den Stoffwechsel wirken, zeigen die jeweils höchsten Konzentrationen der verschiedenen Stoffe, die nur aus diesem Grunde in die Untersuchungen miteinbezogen wurden. Auch Thimann und Mitarbeiter (1950) konnten in neuerer Zeit einen deutlichen Unterschied zwischen den Folgen einer unspezifischen Wachstumshemmung (hohe Elektolytkonzentrationen) und der Einwirkung von WS herausarbeiten.

3. Zur Frage nach dem Angriffspunkt der WS im Stoffwechselgeschehen sind in den letzten Jahren mehrere neue Gesichtspunkte angeführt worden, die sich durch die in vorliegender Arbeit mitgeteilten Befunde ergänzen und verbinden lassen.

Die Gegenüberstellung der zusammenfassenden „Wirkbilder" von NaF und B_1 einerseits, IES, NES und 2,4-D andererseits zeigt, daß die unmittelbar in den Abbauweg der Kohlenhydrate eingreifenden Stoffe auf alle geprüften Stoffwechselfunktionen einheitlich hemmend oder fördernd wirken, während die WS die verschiedenen Wachstumsvorgänge auch gegensinnig beeinflussen können. Besonders die starke Wirkung auf den SW legt den Gedanken nahe, an den Stellen des Stoffwechsels nach der Primärwirkung der WS zu suchen, wo die energieliefernden und die energieverwertenden Prozesse ineinandergreifen. Nun haben bereits Bonner und Wildmann (1947) (vgl. Guttenberg 1949) die Wirkung der IES damit erklären wollen, daß sie die IES als das Co-Ferment einer Phosphatase ansprachen. So wichtig auch die Phosphorylierungsprozesse für die Zelle sind, so ist es doch schwer verständlich, wie eine Phosphatase die vielfältigen WS-Wirkungen hervorrufen könnte. Eine Veränderung im Phosphathaushalt als Folge von WS-Behandlung scheint zwar tatsächlich vorzuliegen, doch kann dies auch eine Sekundärerscheinung sein.

In ihren Untersuchungen über das Wachstum und die Hemmung isolierter Pflanzenteile mit Hilfe verschiedener Atmungsgifte kamen Thimann und Bonner jr. (1948, 1949a, 1949b) zu der Anschauung, daß für das Wachstum der oxydative Abbau der Brenztraubensäure (BTS) von besonderer Bedeutung sei und Sulfhydrylgruppen enthaltende Fermente entscheidend beteiligt sind. Die dehydrierende Decarboxylierung der BTS steht in der Biochemie seit langem im Mittelpunkt des Interesses und die dabei entstehende „aktivierte Essigsäure" wurde schon früh als universeller Baustein für Synthesen aller Art erkannt (vgl. Holzer 1952). Lynen und Mitarbeitern (1951) gelang der Nachweis, daß es sich bei dieser Substanz um eine über die Sulfhydrylgruppe an Co-Enzym A gebundene Essigsäure handelt und daß die entstehende Acyl-S-Bindung in bezug auf ihren Inhalt an freier Energie der energiereichen Phosphatbindung gleichzusetzen ist. Der Dehydrierung der BTS durch Co-Enzym A läuft die Decarboxylierung voraus. Dazu dient das Vitamin B_1 bekanntlich als Co-Ferment. Die gesamte Reaktionskette, in der Energiegewinn und Energieverwertung aufs engste gekoppelt sind, stellt sich nach neuerer Auffassung folgendermaßen dar:



Da in vorliegender Arbeit eine Wechselwirkung zwischen B_1 und IES aufgezeigt werden konnte, ist es sehr verlockend, anzunehmen, daß die WS irgendwie mit der obigen Reaktionskette in Verbindung stehen. Die Vielfalt der WS-Wirkungen auf den Stoffwechsel wäre auf diese Art gut verständlich. Die Formulierung einer Hypothese erscheint zwar noch verfrüht, doch besteht die Hoffnung, daß die weiteren Versuche über die Wechselwirkungen zwischen den WS einerseits, B_1, Atmungsgiften und WS-Antagonisten andererseits bald zu konkreteren Vorstellungen über die Primärwirkung der WS führen.

Zusammenfassung.

1. Isolierte Maiswurzeln wurden steril in Mineralsalze und Glucose enthaltender Nährlösung unter Zusatz verschiedener Konzentrationen von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, α-Naphthylessigsäure, Natriumfluorid und Vitamin B_1 5 Tage kultiviert und anschließend Länge, Trockengewicht, Stickstoffgehalt, Glucoseverbrauch, Sauerstoffverbrauch und Respiratorischer Quotient bestimmt. Zur Aufstellung einer Gesamtstoffbilanz erfolgte die Kultur direkt in den Atmungströgen der Warburg-Apparatur.

2. *2,4-Dichlorphenoxyessigsäure* hemmt mit steigender Konzentration das Längenwachstum bis auf 22%. Das Trockengewicht wird durch 10^{-7} m und 10^{-6} m vermehrt. Der Stickstoffgehalt sinkt nur bei sehr hohen Konzentrationen ab, bleibt aber sonst unverändert. Die Atmung steigt bei Konzentrationen höher als 10^{-7} m stark an. Der RQ bleibt fast unverändert. Bei 10^{-7} m wird der synthetische Wirkungsgrad auf 140% erhöht, bei 10^{-5} m auf 40% erniedrigt. Hohe Konzentrationen führen zur Deformation der Wurzeln und zu starker Anregung des Perizykels.

3. *α-Naphthylessigsäure* führt zu ähnlichen Erscheinungen wie 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Die Steigerung des synthetischen Wirkungsgrades unterbleibt jedoch und es kommt nur zur Verschlechterung desselben bei starken Konzentrationen. Der RQ wird im Gegensatz zu 2,4-D erhöht. Die Deformationen der Wurzeln entsprechen denen bei 2,4-D; es unterbleibt jedoch die Anregung des Perizykels.

4. *Natriumfluorid* wirkt auf alle untersuchten Stoffwechselfunktionen hemmend. Der synthetische Wirkungsgrad wird nur durch sehr hohe Konzentrationen deutlich herabgesetzt. Deformationen der Wurzeln sind mit der Hemmung des Längenwachstums nicht verbunden.

5. *Vitamin B_1* führt in Konzentrationen bis zu $3 \cdot 10^{-3}$ m zu einer generellen Wachstumsförderung, die alle Komponenten gleichzeitig betrifft. Höhere Konzentrationen haben dagegen eine unspezifische

Hemmung des Stoffwechsels zur Folge, wie sie auch bei den höchsten untersuchten Konzentrationen aller anderen Stoffe auftritt.

6. *Die Kombination* von $3 \cdot 10^{-3}$ m B_1 und 10^{-5} m IES hebt sowohl die hemmende Wirkung der IES auf das Längenwachstum, als auch alle anderen stoffwechselphysiologischen Wirkungen auf und führt zu einem Angleichen an die durch B_1 allein verursachten Verhältnisse.

7. Aus diesen Befunden wird gefolgert: a) Die synthetischen Wuchsstoffe sind in Hinsicht auf ihre Wirkung auf den Stoffwechsel mit IES mehr oder weniger identisch und zeigen dieser gegenüber nur graduelle Unterschiede. b) Die Primärwirkung der Wuchsstoffe muß in einem direkten Eingreifen in den Stoffwechsel gesehen werden. c) Auf Grund der Wechselwirkung zwischen Vitamin B_1 und IES wird die Möglichkeit zur Diskussion gestellt, daß die Wuchsstoffe mit der dehydrierenden Decarboxylierung der Brenztraubensäure in Verbindung stehen.

Literatur.

Aberg, B.: Physiol. Plant. **3**, 447 (1950). — Algéus, S.: Bot. Not. (Lund) **1946**, 129 (1946). — Audus, L. J.: New Phytologist **48**, 97 (1948). — Avery, G. S., and E. B. Johnson: Hormons and Horticulture. New York u. London 1947. — Boll, W. G., and H. E. Street: New Phytologist **50**, 52 (1951). — Bonner jr., D., and K. V. Thimann: Amer. J. Bot. **37**, 66 (1950). — Bonner, J.: Plant Biochemistry. New York 1950. — Bonner, J., and F. Addicott: Bot. Gaz. **99**, 144 (1938). — Bonner, J., and G. S. Wildmann: Growth **11**, 51 (1947). — Brown, J. W.: Bot. Gaz. **107**, 332 (1946). — Burström, H.: Physiol. Plant. **4**, 199, 470 (1951). — Cramer, F.: Papierchromatographie. Weinheim 1952. — Dickens, F.: Die manometrische Methode. In Methoden der Fermentforschung von Myrbäck und Bamann. Leipzig 1941. — Frohberger, E.: Höfchen-Briefe **4**, 236 (1951). — Gautheret, R.: Manuel Technique de Culture des Tissus Végétaux. Paris 1942a. — Bull. Soc. Chim. biol. Paris **24**, 13 (1942b). — Growth **11**, 21 (1947). — C. r. Acad. Sci. Paris **226**, 170 (1948). — Guttenberg, H. v.: Fortschr. Bot. **12**, 323 (1949). — Holzer, H.: Angew. Chem. **64**, 248 (1952). — Kandler, O.: Z. Naturforsch. **5b**, 103 (1950); **6b**, 437 (1951); **1953**. — Planta (Berl.) **40**, 346 (1952). — Kandler, O., u. A. Vieregg: Planta (Berl.) **42**, 613 (1953). — Kelly, S., and G. S. Avery: Amer. J. Bot. **36**, 421 (1949). — Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse. Wien 1931. — Kraus, E. J., and J. W. Mitchell: Bot. Gaz. **101**, 204 (1939). — Lode, W.: Z. VDI **90**, 89 (1948). — Lohmann, K., u. O. Meyerhof: Biochem. Z. **273**, 60 (1934). — Lowell, E., L. E. Weller, R. W. Luecke, C. L. Hammer and H. M. Sell: Plant Physiol. **25**, 289 (1950). — Lynen, F., u. R. Königsberger: Liebigs Ann. **569**, 129 (1950). — Lynen, F., E. Reichert u. L. Rueff: Liebigs Ann. **574**, 1 (1951). — Miller, J. H., and R. H. Burris: Amer. J. Bot. **38**, 547 (1951). — Mitchell, J. W., E. J. Kraus and M. R. Whitehead: Bot. Gaz. **102**, 97 (1940). — Mitchell, J. W., and W. M. S. Stewart: Bot. Gaz. **101**, 410 (1939). — Morel, G.: C. r. Soc. Biol. Paris **141**, 280 (1947). — Neely, W. B., C. D. Ball, C. L. Hammer and H. M. Sell: Plant Physiol. **25**, 525 (1950). — Nickel, L. G.: Amer. J. Bot. **37**, 829 (1950). — Pohl, R.: Naturwiss. **39**, 1 (1952). — Robbins, W. J., and V. B. White: Bot. Gaz. **98**, 209 (1936). — Robbins, W. J., and M. Bartley: Science (Lancaster, Pa.) **85**, 246 (1937). — Schäfer, G.: Unveröffentlicht. — Scheuer-

mann, R.: Planta (Berl.) **40**, 265 (1952). — Smith, F. G., C. L. Hammer and R. F. Carlson: Plant Physiol. **22**, 58 (1947). — Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — Synerholm, M. E., and P. W. Zimmermann: Contrib. Boyce Thompson Inst. **14**, 91 (1947a); **14**, 369 (1947b). — Thimann, K. V., and W. D. Bonner jr.: Amer. J. Bot. **35**, 271 (1948a). — Plant Physiol. **23**, 158 (1948b). — Amer. J. Bot. **36**, 214 (1949a). — Proc. Nat. Acad. Sci. **35**, 272 (1949b). — Thimann, K. V., R. R. Slater and G. S. Christiansen: Arch. of Biochem. **28**, 130 (1950). — Thompson, H. E., C. P. Swanson and B. Imhofe: Bot. Gaz. **107**, 62 (1946). — Umbreit, W. W., R. H. Burris and J. F. Stauffer: Manometric Techniques. Minneapolis 1948. — Wagenknecht, A. C., A. J. Riker, T. C. Allen and R. H. Burris: Amer. J. Bot. **38**, 550 (1951). — Warburg, O.: Wasserstoffübertragende Fermente. Freiburg 1949. — Weber, E.: Grundriß der Biologischen Statistik für Naturwissenschaftler und Mediziner. Jena 1948. — Zimmermann, P. W., A. E. Hitchcock and F. Wilcoxon: Contrib. Boyce Thompson Inst. **8**, 105, 337 (1936/37).

Dr. Otto Kandler,
Botanisches Institut d. Universität, München 38, Menzingerstr. 67.

Planta, Bd. 42, S. 349—366 (1953).

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn.

EINIGE VERSUCHE ÜBER DIE WIRKUNG VON HETEROAUXIN AUF DIE SYMMETRIEENTWICKLUNG DER BRUTKÖRPER-KEIMLINGE VON *MARCHANTIA POLYMORPHA* L.*

Von

WILHELM HALBSGUTH und HANS-WILLY KOHLENBACH.

(Eingegangen am 24. April 1953.)

Einleitung.

FITTING (1935—1938, 1942a) hat gezeigt, wie die Entwicklung der Dorsiventralität bei Brutkörperkeimlingen von *Marchantia polymorpha* von den Außenfaktoren abhängt. Die Keimlinge können jedoch, wie er ebenfalls entdeckte, auch „isolateral" werden. Nach HALBSGUTH (1936 und 1953) wird diese Isolateralität durch das Auswachsen aller 4 Thallusanlagen realisiert, die cum grano salis zumindest potentiell in jedem Brutkörper enthalten sind. Sie bilden, morphologisch isolateral zusammengefaßt, eine symmetrisch bidorsiventrale und tetrapolare Einheit. Bei einem hohen Prozentsatz der Brutkörper sind anatomisch in den Vegetationspunkten je 2 Meristeme nachweisbar, so daß in diesen Brutkörpern (da in der Regel 2 Vegetationspunkte, selten 3, vorhanden sind) 4 vollständige Thallusanlagen tatsächlich vorliegen.

In seiner Publikation von 1939 teilte FITTING mit, daß Brutkörper mit hohem Phototonus[1] in Nährlösung im Dunkeln auskeimen (Entwicklung von Rhizoiden, Streckung und Aufnahme des Teilungswachstums), Brutkörper mit niedrigem Phototonus dagegen nicht. Diese lassen sich aber unter sonst gleichen Bedingungen durch Zusatz von β-Indolylessigsäure (10^{-9}—10^{-6})[2] zur Keimung anregen. FITTING sagt, l. c. S. 719: „Das Heteroauxin wirkt also ähnlich wie der Phototonus".

Man findet erst in den Arbeiten von ROUSSEAU (1950, 1951a, b und c) weitere Angaben über die Reaktion von *Marchantia*-Brutbechern und -Brutkörpern auf IES und andere Substanzen mit Wuchs- oder Hemmstoffcharakter. Die nicht die Rhizoiden betreffenden Wachstumsreaktionen, die diese Autorin erwähnt, können aber nicht als ein durch IES usw. gesteuertes normales Wuchsverhalten der Keimthalli verstanden werden, sondern sie erinnern eher an Regenerationsvorgänge, wie sie nach heftigen Störungen an den Brutkörpern eintreten können. Anders ist dies vielleicht mit ihren Beobachtungen an Rhizoiden, wie solche auch MOEWUS und SCHADER (1952) mitteilen. Hiernach wird durch IES innerhalb

* Herrn Prof. Dr. BURGEFF zum 70. Geburtstag gewidmet.

[1] Unter Brutkörpern mit hohem bzw. niedrigem Phototonus (bzw. hell oder dunkel gestimmten Brutkörpern) sind solche zu verstehen, die von einem Thallus gebildet werden, der bei relativ hohem bzw. niedrigem Lichtgenuß aufwächst.

[2] Konzentrationsangaben in dieser Form haben immer die Dimension g/ml.

physiologischer Konzentrationen das Längenwachstum der Rhizoide derart gefördert bzw. gehemmt, daß mit ihrer Hilfe ein Wuchsstofftest möglich erscheint (MOEWUS und SCHADER 1951). — Weitere Untersuchungen über Wuchsstoffvorkommen und -wirkungen bei grünen Kryptogamen wurden mit *Calypogeia* (v. WITSCH 1940), mit den Seten verschiedener Laubmoossporogone und mit *Selaginella* (SEIDL 1941), sowie mit keimenden Sporen und Protonemen von *Funaria* (HEITZ 1940 und 1942; FRIES 1943) unternommen. Dabei konnte für *Calypogeia* das Vorhandensein von Wuchsstoff nachgewiesen und gezeigt werden, daß den Keimlingen zugeführte IES eine Wirkung auf die Teilungsgeschwindigkeit der Scheitelzelle während der anfänglichen Entwicklungsstadien ausübt. Für *Funaria* ergab sich unter anderem, daß durch IES eine Förderung und in gewissem Sinne Steuerung der Rhizoidbildung bei keimenden Sporen erzielt werden kann, und daß in Nährlösung kultivierte Protonemen durch dem Substrat zugefügte IES in der Produktion von Trockensubstanz zwar unregelmäßig, aber unter Umständen ganz außerordentlich gefördert werden können. Eingehende Untersuchungen über die Wirkung von Heteroauxin auf in vitro kultivierte Grünalgen, die Abhängigkeit dieser Wirkung vom p_H und andere findet man in der Arbeit von ALGÉUS (1946), wo auch weitere Literatur zitiert ist. Die von ALGÉUS festgestellte Wirkung besteht in einer konzentrationsabhängigen Stimulation des Teilungswachstums. Die gleiche Wirkung erschließt BOPP (1953) aus seinen Untersuchungen über den Einfluß des Heteroauxins auf das Wachstum des Protonemas von *Funaria*.

An die oben angegebene Beobachtung von FITTING knüpft die Hypothese an, daß dem „Wuchsstoff" eine sehr wichtige Rolle auch bei dem Zustandekommen von Dorsiventralität bei den Brutkörperkeimlingen zukomme. Diese Hypothese ist bei HALBSGUTH (1953) formuliert. In ihr liegt die Begründung für unsere Versuche, mit Hilfe von IES in die Symmetrieentwicklung von Brutkörperkeimlingen einzugreifen[1]. Einige Sätze sollen unsere Fragestellung etwas weiter erläutern. Wie FITTING gezeigt hat, kann man vor der Keimung der Brutkörper durch Anwendung der Schwerkraft-, Licht- oder Substratwirkung auf die im Keimbett befindlichen Brutkörper diesen die Dorsiventralität, die sie später entwickeln, induzieren. Das Stärkeverhältnis gegensinnig kombinierter Induktoren und der Grad des Inhärentwerdens (Stabilisierung) der Dorsiventralität hängen dabei von den Wärme- und Lichtverhältnissen während der Kultur der Mutterthalli und während des eigentlichen Versuchs ab. Induktions- und Stabilisierungsprozesse sind rein physiologischer Art. Sie sind abgeschlossen längst bevor Anzeichen beginnender Keimung morphologisch oder anatomisch festgestellt werden können.

Wenn nun tatsächlich die Annahme einer Mitwirkung von Wuchsstoff bei den Induktions- und Stabilisierungsprozessen (etwa durch Verlagerung) zutrifft, so ist zu erwarten, daß bei entsprechenden Experimenten durch dem Substrat zugefügte IES das Zahlenergebnis gegenüber der Kontrolle geändert wird. Dies prüften wir in den nachfolgenden Versuchen[2].

[1] Die Frage, ob IES der genuine Wuchsstoff von *Marchantia polymorpha* ist, soll in dieser Arbeit nicht berührt werden.

[2] Daß IES durch *Marchantia*-Brutkörper überhaupt aufgenommen werden kann, ist bereits mit der obenerwähnten Feststellung ihrer keimungsanregenden Wirkung auf dunkel gestimmte Brutkörper in Dunkelkultur durch FITTING erwiesen.

Versuche.

Versuch I.

Am 25. 2. 51 wurden insgesamt 183 Brutkörper eines *Marchantia*-Thallus, der zu einem für Versuchszwecke herangezogenen Klon gehört, in entsprechender Weise, wie dies bei FITTING (1935) beschrieben ist, in 2 Petrischalen jeweils zwischen Knop Nähragar ausgesät. In der einen Schale enthielt der Agar keine weiteren Zusätze, in der anderen waren ihm 10 γ/ml β-indolylessigsaures Kalium zugestzt (entspricht der Konzentration 10^{-5}). Nach der Aussaat kamen die Schalen gleichzeitig an den Klinostaten (Achse horizontal, Petrischalen in einer Ebene befestigt, die die Klinostatenachse enthält). Diese war im Institut, im Zimmer des einen von uns, nahe an einem nach SO gelegenen Fenster aufgestellt. Nach 11 Tagen wurde das Ergebnis ausgezählt. Die Bezeichnungen in der folgenden Tabelle (und in den weiteren) sind dieselben wie in den Arbeiten FITTINGS[1].

Die Tabelle 1 enthält das Ergebnis (Prozentangaben).

Tabelle 1.

Datum	Aussaat	Vor-induktion	Substrat	Geflügelt	Isolateral	1/1	o/u	u/o	Ohne Tendenz
25. 2. 51 bis 8. 3. 51	zwischen Agar	keine	Knop ohne IES	17	14	2	39	28	33
			Knop mit IES	54	28	4	34	24	42

[1] Dementsprechend enthält die Spalte „*geflügelt*" jene Brutkörper, bei denen die Thallusanlagen mindestens eines Vegetationspunktes beide ausgewachsen sind, gleichgültig ob die Anlagen zu je einem vollständigen Thallus mit Vegetationspunkt ausgewachsen sind, oder ob eine von ihnen nach mehr oder weniger kurzer Entwicklung ihr weiteres Wachstum eingestellt hat. Die Spalte „*isolateral*" enthält jene Brutkörper, bei denen aus mindestens einem der beiden Vegetationspunkte *beide Thallusanlagen gleichwertig* ausgewachsen sind, während „*1/1 (-isolateral)*" nur jene Brutkörper sind, bei denen aus *beiden* Vegetationspunkten *beide* Anlagen zur Entwicklung kamen. „*Ohne Tendenz*" sind jene Brutkörperkeimlinge, die entweder 1/1-isolateral ausgewachsen sind oder bei denen aus jedem Vegetationspunkt nur je eine Anlage vollständig ausgewachsen ist, die beiden Keimthalli aber entgegengesetzte Dorsiventralität zeigen. „o/u" bzw. „u/o" sind jene Keimlinge, die entweder an beiden Vegetationspunkten dorsiventral mit Oberseite zur Deckel- bzw. Bodenhälfte der Petrischale oder nur an einem Vegetationspunkt dorsiventral, am anderen aber isolateral ausgewachsen sind.

Die Auszählung ist also doppelt. In der ersten Spalte sind alle Thalli danach ausgezählt, ob sie geflügelt sind oder nicht. Aber nur die geflügelten sind angegeben. Diese werden in den beiden folgenden Spalten noch unterteilt in isolaterale und 1/1-isolaterale Keimthalli. — Von diesen 3 ersten Spalten ist also jede in der vorhergehenden enthalten. — Die 3 letzten Spalten zählen alle Thalli nochmals aus, und zwar nur nach der Dorsiventralität, wie dies oben erläutert ist. — Danach wäre also z. B. die erste Zeile der Tabelle 1 wie folgt zu lesen: In der Schale ohne IES waren 17% der Thalli geflügelt, 83% ungeflügelt. Diese 17% geflügelten setzen sich zusammen aus 2% (immer bezogen auf die Gesamtzahl der Thalli in einer Schale) 1/1-Isolateralen, 14% nur einseits Isolateralen und 1% nichtisolateral geflügelten Thallis. Die weiteren 3 Spalten ergeben immer zusammen 100%. Sie bedürfen keiner weiteren Erläuterung.

Zu diesem Ergebnis ist folgendes auszuführen:

Bei der gegebenen Versuchsanordnung hat sich die Zugabe von IES zum Substrat dahin ausgewirkt, daß der Prozentsatz der Thalli mit Flügelbildungen auf mehr als das Dreifache, der Isolateralen auf das Doppelte angestiegen ist. Hinsichtlich der Ausbildung der Dorsiventralität sind dagegen keine großen Änderungen eingetreten. Immerhin ist charakteristisch, daß der Prozentsatz der Thalli ohne Tendenz größer geworden ist — insgesamt um 9%, von denen 2% auf die 1/1-Isolateralen, die restlichen 7% auf solche Keimlinge zurückzuführen sind, die an ihren beiden Enden verschiedene Dorsiventralität aufweisen.

Im Hinblick auf die besondere, bidorsiventral-tetrapolare Struktur der Brutkörper läßt sich das Ergebnis kurz so formulieren: *Unter den angegebenen Versuchsbedingungen fördert die IES das Auswachsen der Thallusanlagen.* Daß diese Förderung nicht noch stärker zum Ausdruck kommt als in Tabelle 1, hängt zweifellos vom Brutkörpermaterial ab. Denn an Hand der Versuchsergebnisse FITTINGs hat sich zeigen lassen (HALBSGUTH 1953, S. 80ff.), daß die Entwicklung isolateraler Thalli, d. h. aber das Auswachsen beider Thallusanlagen der Vegetationspunkte, nicht nur davon abhängt, daß jeder einseitige Einfluß der Induktoren möglichst ausgeschaltet ist, sondern auch davon, daß die allgemeinen Entwicklungsbedingungen in Vorkultur und im Versuch möglichst günstig gewesen sind. Wenn also bei dem im Versuch verwendeten Brutkörpermaterial 1. in der Vorkultur die allgemeinen Entwicklungsbedingungen für die Mutterthalli, in erster Linie der Lichtgenuß, gut gewesen sind, 2. im Versuch selbst gute Entwicklungsbedingungen für die Brutkörper herrschen, insbesondere ihr Lichtgenuß günstig und ihr Gasaustausch nicht behindert ist und 3. wenn die Induktionswirkungen — gleichgültig auf welche Art dies erreicht wird — im Gleichgewicht sind, dann sind bei der Auszählung des Versuchs viele isolaterale Thalli zu erwarten: d. h., daß bei sehr vielen Brutkörpern mehr als 2 von den insgesamt meist 4 vorhandenen Thallusanlagen vollständig zur Entwicklung kommen. Außerdem wäre anzunehmen, daß derart aufgewachsene Brutkörper optimal mit genuinem Wuchsstoff versehen sind. Ob unter solchen Umständen überhaupt noch die Möglichkeit für eine Förderung durch zusätzlich zum Substrat hinzugefügte IES gegeben wäre, bleibt abzuwarten. Umgekehrt ist es natürlich auch denkbar, daß die Konstellation der Vorkulturbedingungen derartig ist, daß das Brutkörpermaterial auf eine ins Substrat gegebene oder anders applizierte IES-Dosis optimal reagiert.

Auch ist es nicht erstaunlich, daß die IES keine Wirkung auf die Richtung der Dorsiventralität ausgeübt hat. Sie wurde den Brutkörpern ja allseitig geboten und konnte daher ihre Wirkung gar nicht nur auf die der Boden- oder der Deckelhälfte der Petrischale zugekehrten Thallus-

anlagen beschränken. Wie aber noch ausgeführt werden wird, kommt die Dorsiventralität durch eine Auswahl bestimmter Thallusanlagen der Brutkörper zustande. — Es ist vielleicht auffallend, daß in beiden Petrischalen die Anzahl der dorsiventralen Keimlinge mit Dorsalseite zur Deckelschale etwas höher ist als die Anzahl der Keimlinge mit der umgekehrten Dorsiventralität. Dies hängt jedoch wahrscheinlich damit zusammen, daß die Schalen während des Impfens und aus zeitlichen Gründen noch einige Zeit danach (etwa 2 Std) normal hell[1] standen, bis sie an den Klinostaten kamen. Die Brutkörper erfuhren dabei eine gewisse Vorinduktion durch Licht und Schwerkraft.

Versuch II.

Am 11. 8. 51 wurden insgesamt 206 eines zum gleichen Klon gehörenden, auf Heideerde kultivierten *Marchantia*-Thallus zwischen Nähragar in 3 Petrischalen ausgesät. Diese 3 Schalen unterschieden sich im Gehalt des Substrates an IES. Die erste enthielt keine IES (Kontrolle), die zweite enthielt 1 γ/ml (10^{-6}) und die dritte 10 γ/ml. Nach dem Impfen wurden diese Schalen gleichzeitig von 9^{20} bis 21^{20} Uhr, also 12 Std lang, normal hell[1] zu gleichsinniger Schwere- und Photovorinduktion aufgestellt. Danach kamen die Schalen an einen im hellen Gewächshaus stehenden Klinostaten. Technische Gründe hatten im übrigen in diesem Versuch dazu geführt, daß in den Schalen ohne und mit 1 γ/ml IES die Agarschichten in den Bodenhälften der Schalen jeweils nur $^1/_2$mal so dick wie in den zugehörigen Deckelhälften waren, während die Bodenschicht in der 10 γ/ml-Schale nur $^1/_3$ der Deckelschicht betrug. Am 25. 8. 51 wurde der Versuch ausgewertet.

Tabelle 2 bringt das Ergebnis.

Tabelle 2.

Datum	Aussaat	Vorinduktion	Substrat	Geflügelt	Isolateral	1/1	o/u	u/o	Ohne Tendenz
11. 8. 51 bis 25. 8. 51	zwischen Agar	12 Std normal hell	Knop ohne IES	23	1	0	99	1	0
			Knop mit 1 γ/ml IES	58	11	0	45	34	21
			Knop mit 10 γ/ml IES	95	23	0	27	41	32

Auf Grund der verschiedenen Dicke der Agarschichten in Boden- und Deckelschalen ist damit zu rechnen, daß das Licht während der Drehung der Schalen am Klinostaten eine stärkere Wirkung von der Bodenschale her auf die Brutkörper ausübt als von der Deckelschale her. Diese Wirkung des Lichtes während der Drehung am Klinostaten muß daher der Vorinduktion der Brutkörper entgegenwirken. Wie aber der Versuchsausfall in der Schale ohne IES zeigt, ist diese Wirkung an und für sich praktisch gleich null. Denn 99% der Brutkörper haben

[1] „Normal hell" bedeutet hier und in den weiteren Versuchen, daß die Schalen mit dem Deckel nach oben aufgestellt und von oben beleuchtet wurden (Tageslicht).

sich in dieser Schale ausschließlich im Sinne der Vorinduktion dorsiventral entwickelt. Diese Beobachtung stimmt völlig mit den Ergebnissen von Versuchen überein, die FITTING (1936, II, S. 706, Tabelle 1, 4.—6. Spalte) unternommen hat, mit dem Ziel, den etwaigen Einfluß verschiedener Dicke der Agarschichten zu beiden Seiten der Brutkörper zu ermitteln. Dabei verhielten sich die Dicken in 2 Versuchen wie 1:5, ohne daß das Ergebnis hierdurch beeinflußt worden wäre.

Die Deutung des Versuchs kann deshalb wenigstens zunächst ohne Berücksichtigung der verschiedenen Dicken des Agars in Boden- und Deckelschalen erfolgen. — Die Schalen mit IES zeigen ein ganz anderes Ergebnis als die Kontrolle ohne IES. Zunächst fällt wiederum die starke Zunahme der geflügelten Thalli und auch die der isolateralen auf. In der 3. Schale (10 γ/ml) sind fast alle Keimlinge geflügelt. — Aber auch in der Auswirkung der 12stündigen Vorinduktion durch Licht und Schwerkraft zeigen sich überraschende Unterschiede. Während sich in der Kontrolle 99% der Keimlinge dorsiventral im Sinne der Vorinduktion entwickelt haben, sind es bei Zusatz von IES nur 45% (1γ/ml) bzw. 27% (10 γ/ml). Diese Unterschiede — zumindest die zwischen Kontrolle und der Schale mit 1γ/ml IES-Zusatz zum Substrat — sind eindeutig auf die Wirkung der IES zurückzuführen. Und damit ergibt sich die überraschende Tatsache, daß in diesem Versuch *die dem Substrat zugefügte IES die Vorinduktion bei einem hohen Prozentsatz der Brutkörper unwirksam macht*. Es wird hierüber weiter unten noch zu sprechen sein.

Nichtsdestoweniger scheint uns dieser Versuch zu zeigen, daß auch noch besondere Versuche nötig sind, in denen untersucht wird, ob nicht doch in diesem Versuch II ein Zusammenspiel zwischen dem einseitig etwas stärkeren Licht und der im Substrat vorhandenen IES stattgefunden hat. Es wäre nämlich denkbar, daß das einseitige Plus an Licht zwar nicht stark genug ist, um sich allein gegen die Vorinduktion durchzusetzen. Aber wenn, wie soeben ausgeführt, die dem Substrat zugefügte IES die Wirkung der Vorinduktion herabsetzt, arbeitet sie also im gleichen Sinne wie die am Klinostaten einseitig etwas stärkere und der Vorinduktion entgegengerichtete Lichtwirkung. Es könnte also die IES im Substrat die an sich unterschwellige Wirkung des einseitigen Lichtüberschusses so verstärken, daß sie nunmehr deutlich zum Ausdruck kommt, so daß also auch die Umkehrung der durch die Vorinduktion erzeugten physiologischen Dorsiventralität (des ganzen Brutkörpers!) im Versuch II in — vielleicht viel — stärkerem Maße stattgefunden haben kann, als dies bei alleiniger Wirkung der IES der Fall gewesen wäre.

De facto kann kein anderer Grund für die Tatsache angegeben werden, daß in den beiden Schalen mit IES ein hoher Prozentsatz von Keimlingen (34 bzw. 41%) genau die umgekehrte Dorsiventralität

entwickelt hat, als es der Vorinduktion entspricht. Die Vorinduktion — dies zeigt die Kontrolle — erzeugt „Oberseiten zur Deckelschale". In den IES-Schalen haben die erwähnten 34 bzw. 41% (in letzterem Fall also sogar die Mehrzahl) die Oberseiten zur Bodenschale — also im Sinne der während Rotation am Klinostaten einseitig stärkeren, wenn auch allein für sich unterschwelligen, Lichtwirkung ausgebildet. Dies kann kaum allein auf die IES-Wirkung zurückgeführt werden, weil die IES allseitig[1] geboten wurde und daher von ihr nur schwer eine richtende Wirkung angenommen werden kann. Da nun aber ein einseitig richtend wirkender Faktor hier bekannt ist, kann man die u/o-Dorsiventralität mit diesem Faktor, dem von der Bodenschale her etwas stärker wirkenden Licht, in Zusammenhang bringen. Wir kommen hierauf bei der Besprechung des nächsten Versuchs nochmals zurück. Es muß aber betont werden, daß ohne die zugefügte IES diese Lichtwirkung nicht hätte in Erscheinung treten können. Und jedenfalls zeigt der Versuch deutlich, daß die im Substrat befindliche IES in die Induktionsprozesse irgendwie eingreift — entweder dadurch, daß sie die Vorinduktion in ihrer Wirkung aufhebt oder dadurch, daß sie die Induktionswirkung des allein für sich unterschwelligen, einseitigen Lichtes verstärkt, oder dadurch, daß sie beides tut. Es ist klar, daß hierzu weitere Versuche nötig sind.

Versuch III.

Am 18. 8. 51 wurden insgesamt 213 Brutkörper eines zum gleichen Klon (wie in I) gehörenden, auf Komposterde kultivierten *Marchantia*-Thallus zwischen Nähragar in 3 Petrischalen ausgesät. Diese 3 Schalen unterschieden sich im IES-Gehalt in der gleichen Weise wie in Versuch II. Die Agardicken waren aber zu beiden Seiten der Brutkörper gleich. Nach dem Impfen wurden alle Schalen gleicherweise 22 Std (von 11—9 Uhr des folgenden Tages) zwecks Schwere- und gleichsinniger Photoinduktion (nur Tageslicht) normal hell aufgestellt. Danach kamen sie zusammen an einen im hellen Gewächshaus stehenden Klinostaten. Am 28. 8. 51 wurde der Versuch ausgewertet.

Tabelle 3 bringt die Ergebnisse.

Dieses Zahlenergebnis erscheint zunächst sehr klar. Und die Zunahme der geflügelten Keimlinge sowie der Isolateralen spricht auch

[1] Man könnte hier einwenden, daß gleichzeitig mit den zu beiden Seiten der Brutkörper verschiedenen Agarschichten auch die *Mengen* IES verschieden sind. Darauf wäre zu erwidern, daß einmal Agar- und IES-Menge unverhältnismäßig größer als die Substanzmenge der in einer Versuchsschale enthaltenen Brutkörper sind. Außerdem berühren sich die Oberflächen der in beiden Schalenhälften enthaltenen Agarschichten, mit Ausnahme der durch die Brutkörper selbst ausgesparten Stellen. Diese sind sehr klein (etwa 0,5 mm²) und haben bei rund 100 Brutkörpern je Schale im Durchschnitt einen Abstand von Zentimetergröße. Ein durch Aufnahme von IES seitens der Brutkörper etwa entstehendes Konzentrationsgefälle dürfte daher sofort durch die ungehinderte Diffusion wieder ausgeglichen werden.

Tabelle 3.

Datum	Aussaat	Vorinduktion	Substrat	Geflügelt	Isolateral	1/1	o/u	u/o	Ohne Tendenz
18. 8. 51 bis 28. 8. 51	zwischen Agar	22 Std, davon 13 Std normal hell, 9 Std normal dunkel	Knop ohne IES	18	0	0	100	0	0
			Knop mit 1 γ/ml IES	71	29	6	61	13	26
			Knop mit 10 γ/ml IES	80	39	1	52	16	32

eindeutig wiederum dafür, daß die dem Substrat zugefügte IES das Auswachsen der Thallusanlagen fördert.

Diese allgemeine Förderung wirft aber doch eine Frage auf, die bisher noch nicht angerührt wurde. Die angewendeten Konzentrationen sind nämlich gegenüber sonstigen Arbeiten mit Wuchsstoffen im Hinblick auf die Art der Reaktion ziemlich hoch. Und es ist ja eine bekannte Tatsache, daß IES je nach Konzentration — ganz allgemein gesprochen — nicht nur fördern, sondern auch hemmen kann. Die Zunahme der geflügelten Thalli läßt eine solche Hemmung nun selbst in der höchsten der angewendeten Konzentrationen gar nicht vermuten. Allerdings wäre hierzu zu bemerken, daß man über die in den Brutkörpern tatsächlich zur Wirkung kommende Menge IES gar keine Aussage machen kann. Es soll hier auch bewußt nicht im mindesten der Versuch zu einer derartigen Aussage gemacht werden, weil in diesem Zusammenhang ein ganzer Komplex neuer und — wie uns scheint — zunächst noch unzugänglicher Fragen akut wird.

Andererseits kommt man bei der Deutung der Tabelle 3 nicht ohne die Annahme von Hemmungen aus. Wenden wir jetzt nämlich unsere Aufmerksamkeit der Ausbildung der Dorsiventralität in diesem Versuch zu, so stellen wir fest, daß auch hier die IES offenbar eine große Wirkung zeigt. Diese besteht darin, daß die Nachwirkung der Vorinduktion erheblich herabgesetzt wird. Die Vorinduktion bestimmt durch Förderung der ihr entsprechend liegenden Thallusanlagen in der Schale ohne IES *allein* die Ausbildung bzw. die Richtung der Dorsiventralität. Der Vorinduktion entsprechend liegen aber die der Bodenschale anliegenden Anlagen (vom Substrat einmal abgesehen), die ja auch ihre morphologisch bereits ausgebildete Ventralseite (Außenfläche der Brutkörper) der Bodenschale zukehren. Dementsprechend richten in der Kontrolle alle Brutkörperkeimlinge ihre Oberseite der Deckelschale entgegen. Die Zugabe von IES in das die Brutkörper allseitig umgebende Substrat ist in den beiden anderen Schalen der einzige Unterschied gegenüber der Kontrolle ohne IES. Diese übt also, grob gesagt, folgende Wirkung

aus: Sie hemmt die durch die Vorinduktion geförderten und fördert die durch die Vorinduktion gehemmten Thallusanlagen der Brutkörper.

Wie kann diese Wirkung verstanden werden? Stellt man sich auf den Boden der von HALBSGUTH (1953) entworfenen Hypothese, so wäre die Wirkung der Vorinduktion Entleerung der bei Induktion oben liegenden, der Deckelschale mit ihrer morphologischen Unterseite zugewendeten Thallusanlagen der Brutkörper von genuinem Wuchsstoff infolge seiner Verlagerung (in die andere, anders orientierte Anlage) durch die Schwerkraft bzw. Zerstörung durch das Licht. Die Schalen standen ja normal, d. h. die Deckelschalen nach oben und dem Licht zugekehrt. Die allseitige Aufnahme des von außen zugeführten Wuchsstoffes könnte dann zu einer hemmenden Überkonzentration in den induktionsgeförderten und zu einer fördernden Konzentration in den durch die Vorinduktion von Wuchsstoff mehr oder weniger entleerten Thallusanlagen führen. Wie man sieht, stellt sich sofort wieder die Frage, wieviel IES die Brutkörper aus dem Substrat aufnehmen. Da dies noch nicht beantwortet werden kann, bleiben die soeben gemachten Ausführungen vorläufig eine nur vielleicht mögliche Deutung.

Eine andere Deutung der diskutierten Wirkung der IES ließe die Hemmung der durch die Vorinduktion geförderten Thallusanlagen als eine indirekte Hemmung infolge der IES-Förderung der induktionsgehemmten Anlagen erscheinen. Wenn nämlich diese den durch die Vorinduktion in ihnen entstandenen Mangel an Wuchsstoff durch Aufnahme von IES aus dem Substrat ausgleichen können, werden sie eher in der Lage sein, die Konkurrenz (vgl. HALBSGUTH 1953, S. 99ff.) mit den induktionsgeförderten Anlagen aufzunehmen. Diese Deutung hat den Vorteil, daß nicht in ein und demselben Brutkörper in der einen Anlage eine konzentrationsabhängige Förderung und gleichzeitig in der anderen, unmittelbar mit der ersten verbundenen Thallusanlage eine von der fast gleichen Konzentration abhängige Hemmung angenommen werden muß. Denn relativ zur Außenkonzentration dürfte die Innenkonzentration an Wuchsstoff, welche ja die durch die Induktion zustande kommende Differenz zwischen den opponierten Anlagen bedingt, nur eine geringe Rolle spielen, wenn nicht die von den Brutkörpern aus dem Substrat aufgenommene Menge IES nur äußerst gering ist. Aber auch diese Deutung erfordert also zusätzliche Annahmen über die Aufnahme der IES durch die Brutkörper aus dem Substrat und ist daher vorläufig mit Vorsicht zu betrachten. In dieser Sache müssen die Ergebnisse weiterer Versuche abgewartet werden.

Vergleicht man nun die Ergebnisse von Versuch II und III, so wird man geneigt sein, anzunehmen, daß in II die IES einmal an sich der Vorinduktion entgegengewirkt hat und zweitens die unterschwellige Lichtwirkung so unterstützt hat, daß auch diese zum Ausdruck kommt.

Denn in III hat offensichtlich auf Grund der längeren Vorinduktion die Anzahl der Keimlinge, die im Sinne dieser Induktion o/u-dorsiventral geworden sind, gegenüber II erheblich zugenommen. Diese Zunahme hat aber ausschließlich auf Kosten der u/o-Dorsiventralen stattgefunden, während die Anzahl der Thalli „ohne Tendenz" in beiden Versuchen annähernd gleich ist. Dies spricht dafür, daß in II ein u/o-induzierender Faktor mitgewirkt hat, der das Verhältnis zwischen den u/o-Dorsiventralen und den Thallis ohne Tendenz in Tabelle 2 zugunsten der erstgenannten verschoben hat. Als derartig wirkender Faktor kommt in Versuch II nur das einseitig während der Rotation der Schalen am Klinostaten etwas stärker einwirkende Licht in Frage. In Versuch III dagegen war nach Abschluß der Induktion kein einseitig richtender Faktor mehr wirksam. Hier ist daher lediglich die Wirkung der Vorinduktion durch die im Substrat vorhandene IES vermindert worden.

Es muß nun noch an Hand der Versuche II und III ein Wort über die Stabilisierung einer induzierten Dorsiventralität gesagt werden. FITTING (1938) hat ja gezeigt, daß z. B. eine vor der Keimung applizierte Schwereinduktion von hell gestimmten Brutkörpern festgehalten wird. Es läßt sich je nach der Höhe des Phototonus und der Dauer der Vorinduktion auch durch andauernde nachfolgende Gegeninduktion mittels Licht und Schwerkraft die von der Vorinduktion erzeugte Dorsiventralität (die Brutkörper wiederum als Ganzes genommen) nicht mehr umkehren. Dabei sind Vorinduktion und Fixierung der entsprechenden Dorisventralität längst abgeschlossen, bevor das erste Anzeichen von Keimung auch nur mikroskopisch sichtbar wird. Dunkel gestimmte Brutkörper halten dagegen eine ebenso lange, gleichartige Induktion nicht bzw. bei weitem nicht im gleichen Ausmaß fest.

In den Versuchen II und III sind nun Brutkörper verwendet worden, die von Thallis stammen, die im hellen Gewächshaus herangezogen worden waren. In den Sommermonaten mußte dieses Gewächshaus, dessen Glasfronten nach SO gerichtet sind, schattiert werden. Es ist aber trotzdem nicht anzunehmen, daß die Brutkörper in Dunkelstimmung waren. Denn es erhalten künstlich dunkel gestimmte Brutkörper schon durch etwa 24stündige Rotation am Klinostaten unter einer in 21 cm Abstand brennenden 40 W Osram-Opallampe einen so hohen Phototonus, daß eine vor der Rotation erfolgte Schwereinduktion *im Dunkeln* von 24 Std Dauer nach Beendigung der Rotation in allseitigem Licht sich bei rund der Hälfte aller Brutkörper durchsetzt, auch wenn bei der weiteren Entwicklung andauernde Gegeninduktion durch *Schwerkraft und Licht* stattfindet (FITTING, 1938, S. 192). Deshalb darf also damit gerechnet werden, daß die in Versuch II und III verwendeten Brutkörper ziemlich hell gestimmt waren. So muß also auch die Induktion in den Brutkörpern der Versuche II und III in erheblichem

Maße stabilisiert — d. h. durch bloße Anwendung von Gegeninduktionen nicht umkehrbar gemacht worden sein. In den Versuchen II und III fanden aber gar keine Gegeninduktionen statt (Klinostat!). Um so mehr mußten die Vorinduktionen sich durchsetzen, und die Kontrolle zeigt ja auch, daß alle Keimlinge im Sinne der Induktion dorsiventral geworden sind. Trotzdem aber wurde durch die Wirkung der IES die Wirkung der Vorinduktion in beiden Versuchen erheblich gemindert. Sogar in Versuch III — also nach 22stündiger Schwereinduktion, welche noch während 13 Std durch die gleichsinnig induzierende Wirkung des Tageslichtes unterstützt wurde — ist die Wirkung der Vorinduktion bei 39 bzw. 48% der Brutkörper durch die IES vollständig aufgehoben worden.

Auf Grund der bereits zitierten Hypothese (HALBSGUTH 1953, S. 99ff.) ist dies ohne Schwierigkeit plausibel: Die Induktion führt zu einem Ungleichgewicht in den Brutkörpern hinsichtlich der Wuchsstoffverteilung. Dieses bedingt in den wuchsstoffreicheren (dem Licht ab- und der Schwerkraft, d. h. dem Boden der Schalen zugekehrten) Thallusanlagen der Brutkörper eine Förderung, die je nach Grad und Lage des Ungleichgewichtes die wuchsstoffärmeren Anlagen in der Konkurrenz benachteiligt. Ist diese Benachteiligung so weitgehend, daß die induktionsgehemmten, wuchsstoffärmeren Anlagen auch bei nachfolgender Gegeninduktion nicht oder nur noch zu einer Flügelbildung auswachsen, so nennt FITTING dies Stabilisierung der Induktion (die Dorsiventralität der durch die Vorinduktion geförderten Anlage ist dann auch die Dorsiventralität des sich entwickelnden Brutkörperkeimlings). Und die Versuche II und III zeigen somit, daß selbst so weitgehende, *konkurrenzentscheidende* Induktionsförderungen und -hemmungen durch Zugabe von IES ins Substrat unwirksam werden — d. h. entweder nicht zustande kommen oder durch Ausgleich des induktionsbedingten Wuchsstoffungleichgewichtes kompensiert werden.

Morphotische Wirkungen der IES.

Wie ROUSSEAU (1950) zuerst erwähnt hat, treten bei Brutkörpern von *Marchantia* anomale Wachstumsvorgänge ein, wenn man dem Substrat in höherer Dosis (10^{-4})[1] IES zufügt. Wir können dies auch für die Konzentrationen 10^{-5} und 10^{-6} bestätigen, müssen aber hinzufügen, daß der Grad der Wachstumsanomalie nicht allein durch die IES bestimmt wird, sondern daß andere Außenfaktoren — wir vermuten in erster Linie Licht oder Temperatur —, die während der Keimung der Brutkörper auf dem IES-haltigen Substrat auf sie einwirken, dabei von wesentlicher Bedeutung sind. So zeigen die hier diskutierten Versuche I, II und III nur verhältnismäßig unwesentliche Wachstumsstörungen selbst bei den Gruppen mit 10 γ IES/ml Substrat (= 10^{-5}), obwohl bei noch höherer Konzentration sogar zum Teil extreme Störungen auch von uns in sonst ziemlich gleichartigen Versuchen

[1] Konzentrationsangaben in dieser Form haben immer die Dimension g/ml.

beobachtet worden sind. Hierüber soll an anderer Stelle gesondert berichtet werden. Was die Beurteilung der Dorsiventralität bzw. ihre Ausbildung angeht, so stören die in den Versuchen I—III vorhandenen Abweichungen vom normalen Wuchs nicht. Auch stellen sich die gleichen prozentualen Verhältnisse im Ergebnis ein, gleichgültig, ob man nur die normal gebliebenen auszählt oder alle Keimlinge in die Auszählung mit einbezieht. Inzwischen verfügen wir über Applikationsmethoden, bei deren Anwendung die IES keine abnormen Wachstumsvorgänge hervorruft, ohne die hier beschriebene Wirkung zu verlieren.

Im übrigen beschäftigt sich die zitierte Autorin in erster Linie mit dem Verhalten der Rhizoiden, die in ihren Versuchen auf Fließpapier mit Wuchsstofflösung nur auf der „dorsalen" Seite beobachtet werden konnten, „en milieu liquide sur lame de verre" unter der Wirkung der IES beiderseitig, in den Kontrollen (Wasser) nur auf der „ventralen" Seite. Die Autorin schließt: da MIRBEL (1835) festgestellt habe, daß das Licht die Dorsiventralität bestimme „par l'absence des rhizoides sur la face exposée à la lumière", scheine das Heteroauxin also in einer gewissen Weise der Lichtwirkung entgegenzuarbeiten. Hierzu muß bemerkt werden, daß bereits PFEFFER (1871, S. 93) festgestellt hat, daß das Austreiben der Rhizoiden nichts mit der Induktion oder Determinierung der späteren Dorsiventralität zu tun hat. Dies hat FITTING (1936a, S. 371) ausdrücklich bestätigt. Nach der von HALBSGUTH (1953, S. 68ff). eingehend belegten und durch einen Teil der hier vorgetragenen Ergebnisse bewiesenen (s. unten) neuen Auffassung von der Brutkörperstruktur *kann* das Austreiben der Rhizoiden überhaupt nichts mit der Induktion von Dorsiventralität zu tun haben, da diese ja bereits stabil in jeder der 4 Tahllusanlagen eines Brutkörpers vorliegt. Man kann auch im Austreiben der Rhizoiden nicht unbedingt das erste Anzeichen für eine Förderung der „zugehörigen" Thallusanlage erblicken; denn ihr Austreiben auf der dem Substrat abgewendeten Seite könnte auch eine Art phobischer Reaktion sein. Zumindest ist es nicht eine für IES spezifische Wirkung, sondern kann mit einer Reihe anderer Substratfaktoren ebenfalls erreicht werden (GERTZ 1926).

Besprechung der Ergebnisse.

Im Jahre 1935 zeigte GOEDECKE, daß ein *Marchantia*-Thallus auf eine kräftige Dosis von aus Orchideen-Pollinien extrahiertem Wuchsstoff, die der Dorsalseite appliziert wurde, mit einer dorsalseitig konvexen Krümmung reagiert. Dagegen gelang es nicht, einen wäßrigen Wuchsstoffextrakt aus Geweben von *Marchantia polymorpha* herzustellen, der auf *Marchantia* oder *Avena*-Koleoptilen eine Wirkung gezeigt hätte. Auch OVERBECKs (1934) Versuche, bei jungen Sporogonstielen von *Pellia* einen Wuchsstoff nachzuweisen, verliefen negativ. Somit scheint, was die grünen Kryptogamen angeht, die Arbeit VAN DER WEIJS (1933) über Meeresalgen den ersten positiven Befund zu enthalten. OLSON und DU BUY zeigten dann (1937), daß mit Hilfe von Wuchsstoff bei *Fucus*-Eiern der Ort der Entstehung des ersten Rhizoids bestimmt werden kann.

Während man nun nach den oben zitierten Ergebnissen von GOEDECKE und von OVERBECK wohl hätte vermuten können, daß die Wirkung von IES auf die dunkel gestimmten Brutkörper von *Marchantia* nur die

Antwort auf einen nun zufällig durch einen Wuchsstoff gegebenen Stimulus sei (vgl. FITTING 1939, S. 719), muß man nach den zitierten neueren Arbeiten (vgl. auch Einleitung) doch wohl an der Berechtigung dieser Vermutung zweifeln. Zwar ist auch dort nur in einem Fall (*Marchantia*-Rhizoide) von einer Wirkung der IES auf das Streckungswachstum die Rede, welches — vielleicht aber zu Unrecht — als der spezifische Wirkungsbereich des Heteroauxins gilt. Aber es besteht wohl kein Zweifel, daß in allen diesen angeführten Fällen die IES einen sehr tiefen Eingriff in die Funktionen der organismischen Struktur ausgeübt hat. Sollte dies bei *Marchantia* ganz anders sein?

Wird diese Frage verneint, so stellen sich bei *Marchantia* eine ganze Reihe nicht unwichtiger entwicklungsphysiologischer Probleme, die auf eine Lösung warten. Denn wenn die keimungsanregende, der Nährlösung zugefügte Dosis IES nicht nur ein Stimulans darstellt, dann wird man ihre Wirksamkeit am besten so verstehen, daß durch die Zugabe ins Medium ein in den dunkel gestimmten Brutkörpern bestehender Mangel beseitigt wird, dessen Bestehen eben die Keimung im Dunkeln verhindert. Mit Rücksicht auf die Tatsache, daß andererseits hell gestimmte Brutkörper im Dunkeln in Nährlösung ohne IES keimen, wird man schließen, daß in ihnen dieser Mangel nicht besteht[1]. Solche hell gestimmten Brutkörper müßten also im Gegensatz zu dunkel gestimmten einen natürlichen Vorrat an IES oder genuinem, aktivem[2] Wuchsstoff besitzen, der ihnen bei Aussaat in Nährlösung auch im Dunkeln die Keimung ermöglicht. Hier soll dabei der Begriff Keimung nicht zu scharf gefaßt werden, sondern es ist die Aufnahme des Wachstums und das Tätigwerden der Vegetationspunkte damit gemeint. Danach wäre aber dann auch — was ja an sich nicht überraschend ist — anzunehmen, daß der Wuchsstoff überhaupt beim Wachstum des *Marchantia*-Thallus und vielleicht noch weiter in seiner ganzen Entwicklungsphysiologie eine bzw. mehrere Rollen spielt.

Für den Phototonus hat FITTING ja gezeigt (1937a und 1938; 1942b auch für andere Entwicklungsprozesse bei Moosen), daß er nicht nur für

[1] Zur Mechanik der Wuchsstoffwirkung oder -wirkungen (vgl. z. B. POHL 1953 und dort zitierte Literatur) kann und soll auf Grund unserer Ergebnisse nicht Stellung genommen werden — vor allem deshalb nicht, weil wir keinerlei Anhaltspunkte über die in den vorliegenden Versuchen von den Brutkörpern aufgenommene und zur Wirkung gelangende Menge Wuchsstoff bisher besitzen. In weiteren Versuchen werden wir uns auch mit dieser Frage beschäftigen müssen.

[2] Es wäre schließlich auch denkbar, daß der Unterschied zwischen hell und dunkel gestimmten Brutkörpern nicht im Vorrat an Wuchsstoff besteht, sondern in dessen aktivem oder inaktivem Zustand. Wir halten diese Möglichkeit nicht für sehr wahrscheinlich, obwohl wir hierüber keine experimentellen Unterlagen besitzen.

die Keimung der Brutkörper im Dunkeln von Bedeutung ist, sondern auch bei den Induktions- und den Stabilisierungsprozessen mitwirkt. So halten z. B. Brutkörper von hell kultivierten Mutterthallis eine Induktion durch die Schwerkraft von hinreichender Dauer zäh fest, während dunkel gestimmte Brutkörper nach ebenso langer Schwereinduktion diese bei der Keimung sozusagen vergessen und sich ausschließlich nach den bei der Keimung herrschenden Lagebedingungen richten. Da nun offenbar eine Ähnlichkeit zwischen dem Phototonus der hell gestimmten Brutkörper und dem Substrat zugefügter IES bei dunkel gestimmten in der Wirkung auf die Keimung im Dunkeln besteht, so könnte es so sein, daß der Vorrat an Wuchsstoff in hell gestimmten Brutkörpern wenigstens zum Teil die Ursache für deren Phototonus ist.

Betrachtet man nun einen Brutkörper als ein physiologisch homogen isolaterales Gebilde, so kann man schwerlich aus der experimentell belegten, keimungsanregenden Wirkung der IES bei den dunkel gestimmten Brutkörpern in dunkel gehaltener Nährlösung auf die Beteiligung des Wuchsstoffes an den Induktionsprozessen und deren Stabilisierung schließen. Denn dazu müßte man außer ihrer Wirkung auf die Keimung auch ihre Mitwirkung in den Differenzierungsprozessen (zumindest bei der Schaffung der latenten Dorsiventralität durch die Induktoren) und auch ihre Mitwirkung bei den Stabilisierungsprozessen (Fixierung der noch nicht entwickelten, latenten Dorsiventralität) fordern. Es ließe sich dann kaum vermuten, welcher Art diese Wirkungen sein könnten. Aber niemand würde wohl damit rechnen, daß sie identisch sein könnten. Es liegen auch — zumindest bei *Marchantia* — keinerlei experimentelle Anhaltspunkte vor, auf die sich solche Forderungen gründen ließen (hierzu vgl. aber BÜNNING und v. WETTSTEIN 1953 über *Funaria*).

Die homogene physiologische Isolateralität der Brutkörper ist aber zumindest bei einem Teil mit Sicherheit, bei den übrigen mit hoher Wahrscheinlichkeit gar nicht gegeben. HALBSGUTH (1937, 1953) konnte zeigen, daß ein hoher Prozentsatz der Brutkörper bei Entnahme aus dem Brutbecher eine bidorsiventral-tetrapolare Struktur besitzt, die rein anatomisch-morphologisch nachweisbar ist. Die übrigen Brutkörper besitzen höchstwahrscheinlich die gleiche Struktur, auch wenn sie nicht so vollkommen wie bei der erstgenannten Gruppe anatomisch nachweisbar ist. Daß ein Brutkörper bidorsiventral-tetrapolar ist, besagt, daß er aus 4 in sich inhärent dorsiventralen Thallusanlagen besteht. Entwickeln sich alle 4 Anlagen *gleichmäßig*, so entsteht ein isolateraler Thallus, wie er von FITTING (1935) zum erstenmal beobachtet und beschrieben worden ist. Dabei wachsen aus jedem der beiden Vegetationspunkte eines Brutkörpers je 2 Thalli hervor, die einander ihre Oberseiten zukehren. Ist die Entwicklung der 4 Anlagen aus irgendwelchen

Gründen (z. B. infolge der Einwirkung der Induktoren) *ungleichmäßig*, so entstehen je nach dem Grad dieser Ungleichmäßigkeit der Entwicklung mehr oder weniger stark oder schwächer geflügelte Thalli. Die gesetzmäßige Anordnung dieser Flügelungen (immer auf der Oberseite der entstehenden Thalli) und ihr Bau lassen keinen Zweifel darüber, daß die Flügel nichts anderes als in der Entwicklung gehemmte Thalli sind (vgl. hierzu FITTING 1935, S. 351ff.). Die Entwicklung aller 4 Anlagen eines Brutkörpers ist unter anderem auch von den allgemeinen Entwicklungsbedingungen, nicht nur vom Gleichgewicht der Induktoren abhängig (HALBSGUTH 1953, S. 80ff.). Und gerade hierfür, damit also auch für die bidorsiventrale Struktur der Brutkörper, liefern die in dieser Arbeit vorgelegten Versuche einen vorzüglichen Beleg. Denn die Zunahme der geflügelten und der isolateralen Thalli auf Grund der IES-Zugabe ins Substrat ist eindeutig. Wären aber diese Flügelungen, die in so hohem Maß sogar zu vollständigen Thallis sich entwickeln, nicht als Thallusanlagen in den Brutkörpern vorhanden, so müßte man der IES eine Wirkung zuschreiben, die zumindest *Marchantia*-Brutkörperkeimlinge veranlaßt, sich selbst spiegelbildlich zu ihrer Dorsalseite zu reduplizieren. Da dies nicht in Frage kommt, kann nicht daran gezweifelt werden, daß auch das in den einzelnen Kontrollen der Versuche I—III verwendete Brutkörpermaterial in der gleichen Weise bidorsiventral-tetrapolar ist. Damit ist nach unserer Meinung überhaupt bewiesen, daß *Marchantia*-Brutkörper grundsätzlich die bidorsiventral-tetrapolare Struktur besitzen. Dies ist aber die wesentlichste Grundlage der schon mehrfach zitierten Hypothese über die Entwicklung der Dorsiventralität bei den Brutkörperkeimlingen von *Marchantia* (HALBSGUTH 1953).

Unter natürlichen Verhältnissen und unter der einseitigen Einwirkung der Induktoren kommen nur die passend orientierten Anlagen zur Entwicklung. So ist die Induktion der Dorsiventralität bei den keimenden Brutkörpern von *Marchantia* nicht die Erzeugung einer Intimstruktur, sondern eine Auswahl unter 4 an sich bereits dorsiventralen Anlagen, die allerdings natürlicherweise zu einer isolateralen Einheit im Brutkörper zusammengefaßt sind. Es gibt nunmehr *zwei* Gründe dafür, daß die IES oder ein genuiner Wuchsstoff an dieser Auswahl beteiligt ist. Der erste besteht in der keimungsanregenden Wirkung der IES auf dunkel gestimmte Brutkörper im Dunkeln. Auf Grund der Brutkörperstruktur ist sie identisch mit einer Entwicklungsanregung der Thallusanlagen. Diese Entwicklungsanregung findet in den hier vorgelegten Versuchen ihren Ausdruck in der Zunahme geflügelter und isolateraler Thalli unter der Einwirkung der IES. Danach ist zu erwarten, daß eine Differenz im Wuchsstoffgehalt zwischen konkurrierenden

Thallusanlagen eine entsprechende Differenz in der Entwicklung dieser Anlagen nach sich zieht und damit zur Dorsiventralität führt. Damit soll nicht gesagt sein, daß notwendig ein isolateraler Thallus zur Entwicklung kommen muß, wenn keine Differenz im Wuchsstoffgehalt der betreffenden Anlagen besteht. — Der zweite Grund, der für eine Beteiligung von Wuchsstoff an der Entscheidung über die alternative Dorsiventralität durch Auswahl der den Induktoren entsprechenden Anlagen spricht, ist der, daß man — wie in den Versuchen I—III gezeigt worden ist — mittels dem Substrat zugefügter IES in diese Entscheidung eingreifen kann. Dieser Eingriff könnte darin bestehen, daß eine durch Induktionswirkung hervorgerufene Wuchsstoffdifferenz zwischen den alternativ kombinierten Anlagen der Brutkörper mehr oder weniger beseitigt wird.

Unsere Arbeitshypothese (HALBSGUTH 1953) hat durch diese Ergebnisse eine sehr konkrete Grundlage erhalten. Sie nimmt ja weiterhin an, daß sich das Dorsiventralitätsproblem bei den keimenden Brutkörpern von *Marchantia* ziemlich weitgehend in die Wuchsstofflehre einordnen lassen wird, d. h. es werden keine anderen Funktionen von der IES oder dem genuinen Wuchsstoff erwartet, als sie bisher in der Wuchsstoffliteratur behandelt oder diskutiert worden sind. Dies ist ein wesentlicher Vorzug der Hypothese. Andererseits ergeben sich gerade hieraus eine Vielzahl offener Fragen und noch nicht erwiesener Postulate. Aber es besteht auch durchaus die Möglichkeit, daß weitere Arbeit wertvolle Beiträge sowohl auf dem Gebiet der Wuchsstofforschung als auch für das Dorsiventralitätsproblem als solches liefern wird. Unsere Untersuchungen werden daher fortgesetzt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. IES in Konzentrationen von 10^{-5} und 10^{-6} g/ml dem Kultursubstrat von *Marchantia polymorpha*-Brutkörpern zugesetzt bewirkt bei Kultur unter allseits gleichen Bedingungen eine Zunahme der Entwicklung geflügelter und isolateraler Thalli.

2. Unter gleichen Bedingungen wird die Wirkung einer Schwereinduktion von erheblicher Dauer (unter Umständen, die eine Stabilisierung der Induktion im Sinne FITTINGS erwarten lassen) bedeutend herabgesetzt.

3. Die Verstärkung einer an sich unterschwelligen Lichtinduktionswirkung (aber unter besonderen Bedingungen) durch IES wird wahrscheinlich gemacht. Sie bedarf weiterer Untersuchung.

4. Es wird auseinandergesetzt, daß das oben angegebene Ergebnis 1 die Beweiskette für den grundsätzlich bidorsiventral-tetrapolaren Bau der *Marchantia*-Brutkörper schließt.

5. Es wird begründet, daß die IES oder ein genuiner Wuchsstoff wesentlich an der Entscheidung über das Zustandekommen der Dorsiventralität der Brutkörperkeimlinge von *Marchantia* beteiligt ist. Damit hat die Hypothese von HALBSGUTH (1953) über das Zustandekommen dieser Dorsiventralität eine wichtige Stütze erhalten.

Literatur.

ALGÉUS, SVEN: Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Chlorophyceen mit besonderer Berücksichtigung von Indolylessigsäure, Ascorbinsäure und Aneurin. Bot. Not. (Lund) **1946**, 129—278. — BOPP, M.: Die Wirkung von Heteroauxin auf Protonemawachstum und Knospenbildung von *Funaria hygrometrica*. Z. Bot. **41**, 1—16 (1953). — BÜNNING, E., u. D. v. WETTSTEIN: Polarität und Differenzierung an Mooskeimen. Naturwiss. **40**, 147—148 (1953). — FITTING, H.: Untersuchungen über die Induktion der Dorsiventralität bei den keimenden Brutkörpern von *Marchantia* und *Lunularia*. I. Die Induktoren und ihre Wirkungen. Jb. wiss. Bot. **82**, 333—376 (1935). — Untersuchungen über die Induktion der Dorsiventralität bei den Marchantieenbrutkörpern. II. Die Schwerkraft als Induktor der Dorsiventralität. Jb. wiss. Bot. **82**, 696—740 (1936). — FITTING, H.: Untersuchungen über die Induktion der Dorsiventralität bei den Brutkörperkeimlingen der Marchantieen. III. Das Licht als Induktor der Dorsiventralität. Jb. wiss. Bot. **85**, 169—242 (1937a). — IV. Das Substrat als Induktor der Dorsiventralität. Jb. wiss. Bot. **85**, 243—266 (1937b). — V. Die Umkehrbarkeit der durch Außenfaktoren induzierten Dorsiventralität. Jb. wiss. Bot. **86**, 107—227 (1938). — Untersuchungen über den Einfluß von Licht und Dunkelheit auf die Entwicklung von Moosen. I. Die Brutkörper der Marchantieen. Jb. wiss. Bot. **88**, 633—722 (1939). — Über die Abhängigkeit der Körpersymmetrie einiger Pflanzen von der Außenwelt. Biol. Zbl. **62**, 336—373 (1942a). — Untersuchungen über den Einfluß von Licht und Dunkelheit auf die Entwicklung von Moosen. II. Die Thalli der Leber- und Laubmoose. Jb. wiss. Bot. **90**, 595—704 (1942b). — FRIES, N.: Über die Wirkung von Heteroauxin auf das Protonema von *Funaria hygrometrica*. Naturwiss. **43**, 439—440 (1943). — GERTZ, O.: Zur Physiologie der Rhizoidenbildung bei den Brutkörpern von *Lunularia cruciata* (L.) Dum. Lunds Univ. Arsskr., N. F. Avd. **2**, 22 (1926). — GOEDECKE, F.: Über das Zusammenwirken der Richtungsfaktoren bei *Marchantia polymorpha*. Planta (Berl.) **24**, 130—153 (1935). — HALBSGUTH, W.: Untersuchungen über die Morphologie der Marchantieen-Brutkörper (Diss. Bonn). Jb. wiss. Bot. **84**, 290—334 (1936). — Über die Entwicklung der Dorsiventralität bei *Marchantia polymorpha* L. Ein Wuchsstoffproblem? Biol. Zbl. **72**, 52—104 (1953). — HEITZ, E.: Die keimende *Funaria*-Spore als physiologisches Versuchsobjekt. Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 17—27 (1942). — Die Polarität keimender Moossporen. Verh. schweiz. naturforsch. Ges. **1940**, 168—170. — MIRBEL, M.: Recherches anatomiques et physiologiques sur le *Marchantia polymorpha*. Mém. Acad. roy. Sci. Inst. France **13**, 337—436 (1835). — MOEWUS, F., u. E. SCHADER: Über die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung einiger Phthalide. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 124—129 (1951). — Über den Einfluß von Wuchs- und Hemmstoffen auf das Rhizoidwachstum von *Marchantia*-Brutkörpern. Beitr. Biol. Pflanz. **29**, 171—184 (1952). — OLSON, R. A., and H. G. DU BUY: The role of growth substance in the polarity and morphogenesis of *Fucus*. Amer. J. Bot. **24**, 611—615 (1937). — OVERBECK, F.: Beiträge zur Kenntnis der Zellstreckung. (Untersuchungen am Sporogonstiel von *Pellia epiphylla*.) Z. Bot. **27**, 129—170 (1934). — PFEFFER, W.: Studien über Symmetrie und spezifische

Wachstumsursachen. Arb. bot. Inst. Würzburg I **1**, 77—98 (1871). — Pohl, R.: Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum des Sprosses. Naturwiss. **40**, 110/111 (1953). — Rousseau, J.: Action de l'acide indol-β-acétique sur les propagules de *Marchantia polymorpha* et de *Lunularia cruciata*. C. r. Acad. Sci. Paris **230**, 675—677 (1950). — La régénération provoquée par quelqes acides organiques chez les propagules de *Marchantia polymorpha* L. Bull. Soc. bot. France **98**, 148—150 (1951a). — Action de l'acide à naphthalène acétique sur les corbeilles à propagules de *Marchantia polymorpha* L. et de *Lunularia cruciata* Adans. C. r. Acad. Sci. Paris **232**, 107—108 (1951b). — Action des acides 2,4-dichloro-phénoxy-acétique et 2,5-dichloro-thio-acétique sur les propagules de *Marchantia polymorpha* L. C. r. Acad. Sci. Paris **232**, 749—751 (1951c). — Seidl, W.: Wuchsstoffuntersuchungen an *Selaginella Martensii* Spring. Jb. wiss. Bot. **89**, 832—861 (1941). — Weij, H. G. van der: On the occurrence of growth substance in marine algae. Proc. Akad. Amsterdam **36**, 759 (1933). — Witsch, H. v.: Versuche über den Einfluß von Wuchsstoff auf Wachstum und Entwicklung von *Calypogeia trichomanes*. Planta (Berl.) **30**, 664—672 (1940).

Privatdozent Dr. W. Halbsguth,
Bonn, Botanisches Institut der Universität, Meckenheimer Allee 170.

Cand. rer. nat. H. W. Kohlenbach,
Bonn, Botanisches Institut der Universität, Meckenheimer Allee 170.

Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Anleitung zur Planung und Auswertung von Feldversuchen mit Hilfe der Varianzanalyse

Von Dipl.-Ing. **J. J. Post.** Aus dem Niederländischen übersetzt von Professor Dr. **Cornelia Harte.** Mit 14 Abbildungen. VI, 82 Seiten. Gr.-8°. 1952.
Steif geheftet DM 12.—

Inhaltsverzeichnis: Der Mittelwert und der mittlere Fehler. Kurze Einleitung in die Theorie der Varianzanalyse. Der allgemeine Gang der Handlung bei der Auswertung. Blanko-Versuche. Auswertung von Versuchsfeldergebnissen: Versuche mit einem systematischen Faktor. Auswertung von Versuchsfeldergebnissen: Versuche mit zwei systematischen Faktoren. Auswertung von Versuchsfeldergebnissen: Versuche mit drei systematischen Faktoren. Die Auswertung von N-, P-, K-Stufen-Versuchsfeldern. Das Magische Quadrat (Latin-square). Auswertung von Versuchsfeldergebnissen über mehrere Jahre. Korrelations- und Regressionsberechnungen. Die Kovarianz-Methode. Versuchsfeldtechnik. Schemata für Versuchsfelder. — Literaturverzeichnis. — t-Tabelle. — F-Tabelle. — Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Die Physik der Hochpolymeren

Herausgegeben von **H. A. Stuart,** früher Direktor des Physikalischen Instituts der Technischen Hochschule Dresden, z. Z. Gastprofessor an der Universität Mainz. In vier Bänden.

Vor kurzem erschien:

Zweiter Band: **Das Makromolekül in Lösungen**

Bearbeitet von **H. Buchholz-Meisenheimer, R. M. Fuoss, J. Hengstenberg, W. Jost, J. Juilfs, G. Kortüm, O. Kratky, A. Münster, A. Peterlin, G. Porod, G. Schramm, G. V. Schulz, U. P. Strauß, H. A. Stuart.** Mit 323 Textabbildungen. XX, 782 Seiten. Gr.-8°. 1953. Ganzleinen DM 89.60

Inhaltsübersicht: 1. Teil: **Allgemeine Eigenschaften von Lösungen mit Makromolekülen. Thermodynamische Betrachtungen.** Von G. Kortüm-Tübingen, und H. Buchholz-Meisenheimer-Heidelberg. — **Statistische Thermodynamik hochmolekularer Lösungen.** Von A. Münster-Frankfurt a. M. — **Löslichkeit und Quellung.** Von A. Münster-Frankfurt a. M. — **Kinetische und Transporterscheinungen.** Von W. Jost-Darmstadt. — **Viscosität.** Von A. Peterlin-Ljubljana. — **Lichtzerstreuung in Mischungen und Lösungen von Makromolekülen. Einfach- und Mehrfachstreuung.** Von A. Peterlin-Ljubljana. — 2. Teil: **Besondere Methoden zur Bestimmung der Konstitution von Makromolekülen und Kolloidteilchen in Lösungen und Suspensionen. Einleitung.** Von H. A. Stuart-Hannover. — **Osmotischer Druck.** Von G. V. Schulz-Mainz. — **Sedimentation und Diffusion von Makromolekülen.** Von J. Hengstenberg-Ludwigshafen a. Rh. — **Lichtzerstreuung an Lösungen mit Kornmolekülen und Kolloidteilchen.** Von H. A. Stuart-Hannover. — **Röntgenkleinwinkelstreuung von makromolekularen Lösungen.** Von O. Kratky-Graz und G. Porod-Graz. — **Viscosität und Form.** Von A. Peterlin-Ljubljana. — **Künstliche Doppelbrechung.** Von A. Peterlin-Ljubljana und H. A. Stuart-Hannover. — **Dielektrische Dispersion und Relaxation bei Lösungen mit Makromolekülen.** Von H. A. Stuart-Hannover und J. Juilfs-Krefeld. — **Über die Form und innere Beweglichkeit von Fadenmolekülen in Lösung.** Von H. A. Stuart-Hannover. — **Polyelectrolytes.** By Ulrich P. Strauss-New Brunswick, and Raymond M. Fuoss-New Haven/Conn. — **Größe und Form von Proteinmolekülen.** Von G. Schramm-Tübingen. — **Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung durch Zerlegung in Fraktionen.** Von G. V. Schulz-Mainz. — **Namen- und Sachverzeichnis.**

Früher erschien:

Erster Band: **Die Struktur des freien Moleküls**

Allgemeine physikalische Methoden zur Bestimmung der Struktur von Molekülen und ihre wichtigsten Ergebnisse. Von **H. A. Stuart,** früher Direktor des Physikalischen Instituts der Technischen Hochschule Dresden, z. Z. Gastprofessor an der Universität Mainz. Mit 189 Abbildungen. XXI, 609 Seiten. Gr.-8°. 1952. Ganzleinen DM 69.—

Inhaltsübersicht: Tabellenverzeichnis. — Zusammenstellung der am häufigsten benutzten Formelzeichen. Einleitung. — **Valenz- und Molekularkräfte:** Hauptvalenzkräfte. Allgemeine molekulare Kräfte. — **Größe und Form der Moleküle.** — **Das Kerngerüst der Moleküle:** Bestimmung von Kernabständen mit Hilfe von Röntgen- und Elektroneninterferenzen. Spektroskopische Bestimmung von Trägheitsmomenten und Kernabständen. Ergebnisse. — **Die innere Beweglichkeit der Moleküle und deren statistische Form:** Innermolekulares Potential, Drehbarkeit und ausgezeichnete Strukturen. Die statistische Form von Fadenmolekülen. — **Dielektrizitätskonstante, elektrisches Moment und Molekülstruktur:** Allgemeiner Teil. Elektrisches Moment und Molekülstruktur. — **Lichtzerstreuung, Polarisierbarkeit und Molekülstruktur:** Lichtzerstreuung an kleinen Molekülen im Gaszustande. Lichtzerstreuung an Molekülen in Lösung. — **Elektrische Doppelbrechung, optische Anisotropie und Molekülstruktur.** — **Eigenschwingungen des Kerngerüstes:** Allgemeiner Teil. Eigenschwingungen und Molekülstruktur. — **Lichtabsorption und Konstitution** von G. Scheibe und R. Fauß. — Namen- und Sachverzeichnis.

In Vorbereitung: Dritter und vierter Band.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegt ein Prospekt des Springer-Verlages, Berlin - Göttingen - Heidelberg bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg.
Printed in Germany.